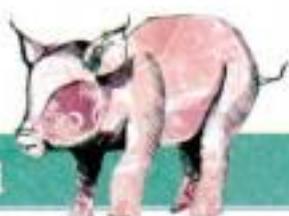


Principais doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal

Alberto Back
Masaio Mizuno Ishizuka



Febre aftosa

Influenza aviária

Doença de Newcastle

Salmonelose aviária

Micoplasmose aviária



Apoio



abipecs

Realização

Cargill

Fundação Cargill

Copyright © Fundação Cargill 2010

Coordenação geral

Fundação Cargill

Apoio

União Brasileira de Avicultura (Ubatel)

Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína (Abipecs)

Coordenação editorial

Rosania Mazzuchelli

Projeto gráfico e capa

Walter Mazzuchelli

Ilustração de capa

Criss de Paulo

Preparação e revisão

Mineo Takatama

Produção editorial e produção gráfica

AGWM editora e produções editoriais

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Back, Alberto / Ishizuka, Masaio Mizuno

Principais doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal / Alberto Back, Masaio Mizuno Ishizuka. – São Paulo : Fundação Cargill, 2010.

ISBN 978-05-7467-015-7

1. Animais – Doenças 2. Medicina veterinária 3. Organização Mundial de Saúde Animal 4. Saúde animal I. Ishizuka, Masaio Mizuno. II. Título.

10-04934

CDD-636.20896

Índices para catálogo sistemático:

1. Animais: Principais doenças de notificação obrigatória:

Medicina veterinária

636.20896

Todos os direitos reservados à

Fundação Cargill

Avenida Morumbi, 8.234

04703-002 – São Paulo – SP – Brasil

Tel.: (11) 5099 3257 – Fax: (11) 5099 3258

www.cargill.com.br

fundacao_cargill@cargill.com

**Principais doenças de notificação obrigatória
da Organização Mundial de Saúde Animal**

AGRADECIMENTOS

A Clever Ávila, que teve a ideia de lançar este livro e nos convidou para o desenvolvimento do texto.

A Denise Cantarelli e Denyse Barreto, que, passo a passo, nos mostraram e facilitaram o percurso dos caminhos a serem seguidos, retirando com sabedoria os obstáculos que surgiam.

A Rosania Mazzuchelli, que nos ensinou de forma acadêmica os cuidados para o aperfeiçoamento de um texto.

A todos os profissionais que continuamente perseguem seu aprimoramento para atender a sociedade brasileira, que clama por animais e produtos de origem animal de qualidade e seguros para a saúde humana, bem como para maior competitividade do Brasil no cenário do comércio internacional.

Alberto Back
Masaio Mizuno Ishizuka

Sumário

Apresentação	8
Introdução	10
Febre aftosa	12
Influenza aviária	44
Doença de Newcastle	78
Salmonelose aviária	120
Micoplasmose aviária	190
Sobre os autores	239

Apresentação

A Fundação Cargill tem como missão preparar as próximas gerações para serem bem-sucedidas na educação, no trabalho e na vida. Essa missão inclui também a preocupação e o cuidado em publicar obras técnicas a respeito dos mais variados assuntos ligados à agricultura, à agropecuária e ao agronegócio.

Desde a década de 1970 já foram publicados 230 títulos e distribuídos gratuitamente mais de 240.000 exemplares para bibliotecas, instituições de ensino, órgãos públicos, pesquisadores, professores, universitários e áreas ligadas à agricultura.

A obra *Principais doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal* tem como finalidade orientar criadores



e contribuir para a solução de problemas sanitários e para a produção de alimentos saudáveis e acessíveis ao consumidor.

Sabemos que as publicações sobre esse tema são escassas, por essa razão a Fundação Cargill se empenhou e buscou no mercado autores renomados, como a Dra. Masayo Mizuno Ishizuka e o Dr. Alberto Back, além do apoio da União Brasileira de Avicultura (Ubabef) e da Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína (Abipecs) para que pudéssemos publicar uma obra diferenciada, de fácil acesso, que fosse referência no Brasil.

Marcelo Martins
Presidente

Introdução

A exploração animal no mundo vem passando por melhoria e crescimento contínuo. Isso tem muito a ver com a necessidade de suprir a demanda humana por alimentos. A produtividade animal está crescendo, mas com ela também os desafios para o controle e a vigilância das enfermidades. Tanto governos locais como entidades internacionais como a Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) estão preocupados em manter o *status* produtivo e sanitário dos plantéis, com vistas em garantir a saúde dos animais, do produtor e da população consumidora.

A qualidade sanitária está muito ligada ao conhecimento, à informação e à educação, por isso necessitamos de boas fontes bibliográficas na língua portuguesa. Porém, a disponibilidade é limitada em quantidade e em qualidade, embora recentemente avanços significativos estejam ocorrendo. Com isso em mente, entendemos que a presente obra vem preencher uma lacuna e dar sua contribuição para o aumento da produtividade e principalmente para a segurança da qualidade do alimento que entra na cadeia da produção humana através de conhecimentos de diagnóstico patológico, clínico e epidemiológico, que são as bases da saúde animal e da medicina veterinária preventiva, requisitos da produtividade.



É objetivo deste livro apresentar informações atuais de forma a aprimorar o conhecimento dos envolvidos na cadeia de produção animal, principalmente médicos-veterinários ligados à saúde animal. As informações sobre etiologia, clínica patológica, epidemiologia, tratamento e controle de algumas das enfermidades mais importantes podem ser extremamente úteis como atualização para o Brasil.

A elaboração de uma obra como esta exige dedicação, muito esforço e o apoio de instituições interessadas na divulgação dessas melhorias. Nosso muito obrigado à Fundação Cargill, à União Brasileira de Avicultura (Ubabef) e à Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína (Abipecs).

Esperamos que as informações contidas neste livro possam ser úteis e de leitura agradável, também contribuam para a solução de problemas sanitários e para a produção de alimentos de boa qualidade e mais baratos e sirvam de estímulo para os profissionais do campo, que têm a responsabilidade de manter a produção animal no Brasil entre as mais competitivas e mais saudáveis do mundo.

Alberto Back
Masaio Mizuno Ishizuka

Febre aftosa

1 Histórico

Doença reconhecida pela primeira vez em 1514 na Itália, bem como seu elevado potencial contagioso. Em 1781 foi oficialmente permitido produzir uma vacina contra a febre aftosa. Na segunda metade do século XIX foi considerada doença infecciosa causada por um agente específico e nessa mesma época foi demonstrada matematicamente a capacidade de multiplicação do agente. Esses conhecimentos permitiram iniciar uma investigação sobre a doença e seu agente, tendo como resultados mais importantes: suscetibilidade da cabaia ao vírus; estabelecimento das bases da vacinação; obtenção da primeira vacina que se revelou eficaz; progressos na produção, em nível industrial, de uma vacina concentrada e utilizada em programas de profilaxia baseada na vacinação sistemática de todos os bovídeos existentes na República Democrática Alemã (1950 a 1958). Em 1922, Vallée e Caré identificaram pioneiramente os tipos O e A do vírus da febre aftosa; em 1926, Waldmann e Trautulein isolaram

o tipo C; e esses três (O, A e C) foram considerados como tipo europeu. Em 1954, Broskshy descobriu os tipos SAT1, SAT2 e SAT3, de origem africana. Broskshy e Rogers comprovaram a existência do tipo ASIA1, de origem asiática. Os tipos O e A apresentam numerosas variantes, ou subtipos, e no Brasil, até hoje, somente os tipos A, O e C ocorreram, mas todos os outros tipos podem infectar o nosso rebanho, isso até hoje não ocorreu graças às barreiras impostas pela vigilância epidemiológica contra doenças exóticas. O tipo de vírus é denominado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) como sorotipo. A infecção por um sorotipo não confere imunidade contra os demais.

A febre aftosa foi relatada pela primeira vez no Brasil em 1895, após sua descrição na Argentina e no Uruguai, coincidindo com a importação sistemática de reprodutores bovinos de raças europeias quando do surgimento da indústria frigorífica. As importações ocorreram desde a época da colonização, que coincide com a ocorrência dos primeiros casos de febre aftosa da península Ibérica no final do século XIX.

No Brasil, a febre aftosa indicou a endemicidade da doença até os anos 1980, quando houve redução de focos após a identificação e controle das áreas endêmicas e emprego de vacina de qualidade. O vírus tipo A foi a causa das principais epidemias, e o tipo C, o de menor incidência entre os três tipos então prevalentes no país (O, A e C). O programa de erradicação, estabelecido em 1992, apresentou estratégias diferenciadas, de acordo com o sistema de produção e participação de representantes do agronegócio, resultando na eliminação dos focos a partir de 2001. O relato da febre aftosa no Brasil desde a década de 1960 alerta para a importância de se conhecer o histórico da doença e elaborar a política pública em saúde animal e os planos de contingência no país livre da febre aftosa.

A ocorrência da doença contribuiu para a criação, em 1909, do Ministério da Agricultura (Rodrigues, 1910). Em 1950 foram estabelecidas as normas de profilaxia da doença, sendo importante naquela década a Primeira Conferência Nacional de Febre Aftosa.

A década de 1960 teve como marco a institucionalização da campanha de combate à febre aftosa, primeiro programa de luta contra a doença, com a participação do Banco do Brasil e sua linha de crédito para aqueles que adotassem as ações preconizadas.

Paralelamente ocorreu a implantação de infraestrutura laboratorial, o treinamento de pessoal e a conscientização dos produtores, iniciando-se o controle constante da doença com a produção e aplicação sistemática de vacina, notificação de focos e diagnóstico da doença.

Na década de 1970 foi estabelecido o sistema de informação, que revelou maior número de focos em razão da vigilância e capacidade de identificação mais apurada. O marco foi a implantação do controle de qualidade da vacina e a identificação das áreas-problemas por meio do estudo do trânsito animal e sua comparação com a ocorrência da doença.

O marco da década de 1980 foi a redução dos focos, com ênfase na caracterização dos ecossistemas e na estrutura de produção como determinantes da doença. Esses estudos e as novas exigências internacionais relacionadas ao processo de globalização implantadas no início dos anos 1990 resultaram em maior apoio ao programa.

O último foco da doença na área livre com vacinação ocorreu em 2001 e as análises soroepidemiológicas foram ampliadas.

2 Conceituação

Doença infecciosa viral considerada como a de maior transmissibilidade entre aquelas que acometem mamíferos, à qual são suscetíveis os animais biungulados, com alto potencial para impor elevados prejuízos econômicos nos animais afetados. É causada por um vírus do gênero *Aphthovirus* da família *Picornaviridae*. Clinicamente, é indistinguível de outras doenças vesiculares, como a doença vesicular dos suínos, estomatite vesicular e exantema vesicular, que torna o diagnóstico laboratorial de qualquer suspeita de doença vesicular uma ação de urgência.

3 Etiologia

3.1 Agente etiológico

É um vírus RNA pertencente à família *Picornaviridae*, do gênero *Aphthovirus*, que possui sete sorotipos imunologicamente distintos, reconhecidos internacionalmente como O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3

e ASIA1. É cultivado em cultura de células de monocamada ou em suspensão e com maior frequência em células renais de bezerros ou de suínos. Como são imunologicamente distintos, a imunidade desenvolvida contra um sorotipo não protege contra os demais. Em um mesmo sorotipo podem ser identificados vários subtipos, por provas bioquímicas e imunológicas, que podem apresentar diferentes intensidades de imunidade cruzada, porém nunca absoluta.

As características de importância epidemiológica do vírus são:

3.1.1 Infectividade

Alta, pois pequena quantidade de vírus é capaz de infectar um animal suscetível.

3.1.2 Patogenicidade

Alta, pois a morbidade nos bovinos pode chegar a 100%.

3.1.3 Virulência

Alta, pelo fato de os sinais clínicos serem intensos.

3.1.4 Imunogenicidade

O vírus apresenta pequena capacidade de resposta imunológica. A vacinação duas vezes ao ano mantém os níveis de imunidade com capacidade de proteção.

3.1.5 Persistência

Mantido (raramente) por animais silvestres, no Brasil pelo veado-campeiro, que é um fissípede, mas não foi ainda isolado o vírus nesse animal e por isso a persistência é muito baixa. Portanto, o vírus persiste na natureza pela passagem sucessiva de um animal infectado (doente ou portador) para um sadio.

3.1.6 Resistência

- **Resistência ao meio ambiente:** resistente em baixas temperaturas, escuridão, presença de ar seco, mas em condições contrárias, como exposto à luz solar direta, é menos resistente. Isso às vezes depende do modo como o vírus se apresenta, isto é, livre

ou contido em epitélio ou tecido muscular. Assim, todo e qualquer objeto de locais onde ocorre febre aftosa deve ser considerado suspeito. Dependendo da temperatura e do pH, pode manter-se viável no ambiente e nas forrageiras por mais de um mês.

- **Resistência aos desinfetantes:** resistente aos iodóforos, aos compostos quaternários de amônia, ao fenol e ao hipoclorito, especialmente na presença de matéria orgânica, como ocorre em condições naturais, são inativados pelo hidróxido de sódio 2%, carbonato de sódio 4% e ácido cítrico 0,2%.
- **Resistência ao pH:** permanece viável em pH de material tissular (membranas de aftas e órgãos) e facilmente destruído em pH abaixo de 4,0 e superior a 13. Via de regra, é inativado em pH < 6,0 ou > 9,0. É destruído em poucos segundos em pH 4,0 e à temperatura de 4°C; e perde 90% da infectividade em pH 6,5 em 14 horas, em pH 8,0 em 3 semanas, em pH 9,0 em 1 semana e em pH 10,0 em 14 horas.
- **Maturação completa do tecido muscular:** destruído rapidamente.
- **Resistência à temperatura:** em poucos segundos ou minutos é destruído se atingir a temperatura entre 80°C e 100°C. A dessecação preserva o vírus por semanas ou até meses em poeiras de estábulos, em pele de animais e em leite desidratado. Refrigeração e congelamento preservam o vírus, mas é inativado progressivamente a partir de 50°C.

3.1.7 Sobrevivência

- **À salga e à glicerina:** solução concentrada de sal comum, sal sólido ou glicerina a 50% preserva o vírus.
- **À acidificação:** não afeta o vírus desde que na presença de sangue ou de tecido adiposo ou contido na medula óssea.
- **Em linfonodos, medula e carne parcialmente maturada:** sobrevive em linfonodos por muito tempo, desde que não atingido pela maturação, e na medula óssea; porém, é destruído quando nos músculos pelo baixo pH do *rigor mortis* (pH < 6,0). Em órgãos e linfonodos de animais abatidos na fase aguda da febre aftosa o vírus sobrevive por muito tempo.

Na tabela abaixo, alguns exemplos específicos de resistência ou sobrevivência do vírus.

TABELA

Tempo de sobrevivência do vírus da febre aftosa em produtos cárneos, lácteos e derivados obtidos de animais naturalmente infectados

Produto	Tipo de conservação ou tratamento
Carne	Pré-refrigeração
	Congelada imediatamente após abate
	Fatigada
	Curtida
	Carcaça pendurada (alta temperatura)
Órgãos	+ 4°C
Pele	Conservação em sal de cozinha
Embutidos	Temperatura ambiente
Lingua	Salga
Medula óssea	+ 4°C
Sangue	+ 4°C
Tripa salgada	+ 4°C
Leite <i>in natura</i>	Temperatura ambiente
Leite <i>in natura</i>	Refrigerado
Leite desnatado	Temperatura ambiente
Leite desnatado	Refrigerado
Leite azedo	—
Leite em pó	—
Creme de leite	Temperatura ambiente
Creme de leite	Refrigerado
Manteiga sem sal	Depende da temperatura
Manteiga com sal	Depende da temperatura
Queijo	Sem acidificação ou alta temperatura

Na página seguinte estão relacionados os procedimentos de inativação do vírus da febre aftosa segundo a natureza do produto potencialmente contaminado (Beer, 1999).

	Resistência/sobrevivência do vírus ou tempo para destruição
	Sobrevive por 24 horas e é destruído após 48 horas
	Sobrevive por 80 dias
	Sobrevive por tempo prolongado
	Sobrevive por 42 dias
	Destruido em 48 horas
	Sobrevive por 1 a 2 meses
	Destruido após 26 dias
	Varia de poucos dias a 16 dias
	Destruido após 14 dias
	Sobrevive por 76 dias
	Sobrevive por 73 dias
	Destruido após 14 dias
	Sobrevive por 25 horas
	Sobrevive por 12 dias
	Sobrevive por 30 horas
	Sobrevive por 9 dias
	Destruido após 10 horas
	Sobrevive por longo tempo
	Sobrevive por 3 dias
	Sobrevive por 10 dias
	Sobrevive por 26 dias
	Sobrevive entre 4 e 45 dias
	Sobrevive por 24 horas

3.2 Procedimentos de inativação do vírus

3.2.1 Carne

A inativação deve obedecer a um dos procedimentos abaixo relacionados:

- **Enlatada:** as carnes são submetidas a um tratamento térmico em recipiente hermeticamente fechado para que a temperatura na parte interna alcance 70°C por um mínimo de 30 minutos, ou a outro tratamento equivalente que tenha se revelado capaz de destruir o vírus da febre aftosa.
- **Cocção profunda:** as carnes desossadas e as gorduras retiradas são submetidas ao tratamento térmico de tal forma que atinja 70°C durante pelo menos 30 minutos. Terminada a cocção, devem ser embaladas e manipuladas de tal forma que não venham a ser expostas à contaminação pelo vírus.
- **Salga e dessecação:** quando completado o *rigor mortis*, as carnes devem ser desossadas, salgadas com sal de cozinha (NaCl) e completamente dessecadas. O produto não deve deteriorar à temperatura ambiente. A "dessecação" é definida pela determinação da relação água/proteína, que não deve ser superior a 2,25:1,0.

3.2.2 Lãs e pelos

Para a inativação do vírus presente em lãs e pelos, para uso na indústria, deve-se proceder:

- à lavagem industrial, que consiste na imersão da lã em uma série de banhos com água, sabão e soda (NaOH) ou potassa (KOH);
- à depilação química com cal ou sulfato de sódio;
- à fumigação com formaldeído em local hermeticamente fechado por, no mínimo, 24 horas. O meio mais prático é colocar permanganato de potássio em um recipiente (que NÃO seja nem de plástico nem de polietileno) e adicionar formaldeído comercial (53 ml de formalina e 35g de KMnO_4/m^3 de instalação);

- à lavagem comercial por imersão da lã em detergente solúvel em água à temperatura entre 60°C e 70°C;
- ao armazenamento da lã a 18°C por quatro semanas, ou a 4°C por quatro meses, ou a 37°C por oito dias.

3.2.3 Crinas e cerdas

A inativação do vírus em crinas e cerdas para fins comerciais deve ser realizada por:

- ebulição por, no mínimo, 1 hora;
- imersão por 24 horas (mínimo) em solução de formaldeído comercial a 1% (30 ml de formaldeído em 1 litro de água).

3.2.4 Couros e peles crus ou brutos

Esses produtos destinados a fins comerciais devem ser salgados com sal marinho com 2% de CaCO_3 por 28 dias, no mínimo.

3.2.5 Leite e creme (nata) para consumo humano

Os procedimentos são:

- esterilização a 132°C por 1 segundo (mínimo) (UHT – *ultra high temperature*);
- leite com $\text{pH} < 7,0$, esterilizar a uma temperatura mínima de 72°C por 15 segundos (mínimo), ou seja, pasteurização rápida à alta temperatura;
- leite com $\text{pH} \geq 7,0$, proceder à pasteurização rápida à alta temperatura por duas vezes consecutivas.

3.2.6 Leite para consumo animal

- Pasteurização rápida à alta temperatura por duas vezes consecutivas.
- Pasteurização rápida à alta temperatura combinada com outro tratamento físico, como manter pH a 6,0 por 1 hora (mínimo) ou submeter ao tratamento térmico a 72°C (mínimo) e dessecação.
- Tratamento térmico (UHT) combinado com outro tratamento físico, como no item anterior.

4 Hospedeiros

Entre os animais domésticos, as espécies de hospedeiros naturais são bovinos, suínos, ovinos, caprinos e búfalos. Em todas as regiões do mundo onde não se pratica a vacinação os bovinos são os mais suscetíveis, com morbidade atingindo quase 100%, quando comparados a outras espécies, que, em ordem decrescente, são os suínos, seguidos dos ovinos, caprinos e fissípedes silvestres (cervídeos). Na África, o vírus persiste infectando bovinos e búfalos (*Syncerus caffer*) e, embora possa infectar outras espécies de animais, a infecção perdura por poucos meses e o vírus não sobrevive nessa área geográfica caso não encontre bovinos ou búfalos. Em outras partes do mundo, o vírus persiste infectando bovinos, mas, em algumas circunstâncias, há indicação de que o vírus possa estar adaptado ao suíno, ou ao ovino e ao caprino. É provável que essas estirpes adaptadas de vírus assim possam se modificar, se houver oportunidade, adaptando-se e infectando outras espécies. Entretanto, a estirpe Cathay adaptada a suínos aparentemente não é capaz de infectar ruminantes tanto no campo como experimentalmente e requer células de origem suína para seu isolamento primário. O meio silvestre, com exceção da África, mostra-se não ser capaz de manter o vírus da febre aftosa.

5 Fatores predisponentes

A movimentação e a aglomeração de animais em feiras, exposições, leilões, juntamente com a circulação de caminhões, carros e pessoas em propriedades; a criação de diferentes espécies de animais em uma mesma propriedade e às vezes até o contato de animais silvestres com animais de uma propriedade.

6 Distribuição geográfica

A febre aftosa é endêmica em parte da América do Sul, Ásia, Oriente Médio e na maioria dos países africanos. Na América do Sul ocorrem surtos esporádicos em áreas livres.

6.1 Prevalência

No Brasil, nas regiões ou circuitos pecuários onde foram aplicadas medidas de erradicação e a condição é mantida por medidas de vigilância epidemiológica, a prevalência é igual a zero. Existem regiões (Norte e alguns Estados do Nordeste) que apresentam risco desconhecido e, portanto, a febre aftosa é considerada endêmica.

6.2 Letalidade

Usualmente é baixa em animais adultos e elevada entre jovens acometidos de endocardite.

7 Importância econômica

A febre aftosa é um problema mundial. A doença reduz o lucro dos criadores e a disponibilidade de carne para o consumo, bem como o crescimento econômico da pecuária, limitando o acesso ao mercado internacional. A erradicação mundial é difícil porque nem todo país tem condições financeiras para manter ações de vigilância epidemiológica. O controle da febre aftosa é extremamente importante nas Américas, em vista de sua importância no abastecimento mundial de carne bovina e suína. A ocorrência de febre aftosa pode prejudicar todos os planos de negócios internacionais e causar enormes perdas econômicas, além dos custos para abate, desinfecção e controle do surto.

Mesmo para um país classificado como livre da doença com vacinação, toda carne exportada tem que ser desossada, congelada ou tratada pelo calor antes de ser exportada, acarretando custo adicional de processamento, com conseqüente impacto econômico significativo. Enquanto o vírus da febre aftosa persistir circulando na América do Sul, sua entrada e disseminação em regiões (Estado de Santa Catarina) ou países que não praticam a vacinação (América do Norte, por exemplo), trarão conseqüências devastadoras, acarretando prejuízo econômico duradouro.

8 Patogenia

A porta de entrada é a mucosa oral e a respiratória. No ponto de entrada ocorre a primeira replicação viral e depois de 4 a 16 horas desenvolve-se a afta primária. Em seguida, o vírus atinge a corrente sanguínea e é distribuído para os órgãos de eleição, surgindo aftas secundárias após 48 horas do contágio, acompanhadas de manifestação febril. Ao final de 2 a 4 dias, o título de vírus na corrente sanguínea diminui, embora a viremia possa perdurar de 18 a 103 dias. A localização das aftas secundárias normalmente se dá nas mucosas tegumentárias do trato digestivo anterior, na pele desprovida de pelos, como da cabeça e úbere, e também ao redor dos cascos e espaços interdigitais. O vírus pode fixar-se na musculatura cardíaca e nela multiplicar-se, principalmente em animais jovens, que podem morrer em decorrência de miocardite. O desenvolvimento da afta causa lesão degenerativa pela lise de células localizadas no estrato espinhoso do epitélio, que passam a produzir, inicialmente, pequena quantidade de líquido, que, ao acumular-se, forma vesículas que podem, ou não, se fundir, formando vesículas maiores repletas de linfa de aspecto aquoso, que se rompem, eliminando seu conteúdo e expondo o tecido de revestimento de desprende formando a afta, que é bastante dolorosa. As vesículas localizadas na orofaringe liberam linfa, que se mistura com a saliva e é eliminada para o exterior. As células da porção superior da epiderme proliferam rapidamente, regenerando o tecido em 1 a 3 dias. As aftas e as vesículas que se localizam nas patas desenvolvem-se quase simultaneamente às da mucosa bucal, pele do rolete, espaço interdigital e coroa do casco. Ao se romper, a linfa se mistura com as sujidades, que proporcionam instalação de infecção secundária, acarretando queda da unha; caso contrário, a cura ocorre de 8 a 14 dias.

Após a fase aguda da doença, o vírus causa uma longa e persistente infecção em ruminantes. Da mesma forma, animais vacinados ou naturalmente imunes em consequência da recuperação da doença ao serem expostos ao vírus de campo podem se tornar persistentemente infectados (os denominados portadores), situação essa que pode resultar em embargos à exportação se a vacinação é parte do programa de saúde do país.

8.1 Diagnóstico

É definitivo somente o isolamento viral ou a demonstração de antígeno viral ou do ácido nucleico em amostras de tecidos ou de fluidos. A detecção de anticorpos humorais específicos pode também ser empregada para fins de diagnóstico. Sorodiagnóstico está sendo aprimorado pelo desenvolvimento de procedimentos laboratoriais que detectam proteínas não estruturais (NSP ou PNE) capazes de diferenciar se a infecção é recente ou passada, independentemente do *status* vacinal.

8.1.1 Diagnóstico clínico

O período de incubação é de 2 a 14 dias, seguida de sinais de febre, anorexia, calafrios e redução da produção de leite por 2 a 3 dias. Seguem-se sinais de movimento dos lábios, ranger de dentes, salivação intensa, claudicação, movimentos dos pés como chutar ou bater causados pela dor decorrente da presença de vesículas.

Os casos típicos de febre aftosa são caracterizados pela presença de vesículas na mucosa oral e nas patas, e nas fêmeas podem ser observadas nos tetos e na pele da mama. Vesículas podem também estar presentes em outros locais, como narinas, e nos pontos de pressão dos lábios, especialmente em suínos. O rompimento das vesículas ocorre após 24 horas, e erosões são observadas.

Os sinais clínicos podem variar de moderado a severo de acordo com a estirpe de vírus, dose infectante, idade e raça, e também com o grau de imunidade. A doença pode ser fatal principalmente em animais jovens em decorrência de miocardite e miosite em outros locais.

A recuperação ocorre em 8 a 15 dias e podem ser observadas complicações como erosões, acompanhadas ou não de infecção secundária, deformação de casco, mastite por retenção de leite decorrente da impossibilidade de ordenhar e até comprometimento definitivo da produção de leite, miocardite e morte entre jovens, ou, nos sobreviventes, perda de peso permanente e comprometimento cardíaco irreversível.

Em propriedades com ocorrência de morte súbita em animais jovens, é recomendável o exame minucioso de adultos, que poderá revelar presença de lesões vesiculares se a febre aftosa estiver presente. Em face da ocorrência de estomatite vesicular, doença vesicular

dos suínos (exótica no Brasil), o diagnóstico clínico é de suspeita de doença vesicular. Toda suspeita deve ser notificada ao serviço oficial do Departamento de Saúde Animal (DSA) do Estado.

Convém lembrar que no búfalo africano os sinais clínicos nem sempre estão presentes. Em ovinos e caprinos, as lesões são menos pronunciadas e as de casco podem passar despercebidas. Comumente ocorrem lesões na gengiva de ovinos, agalácia em ovinos e caprinos leiteiros e morte de jovens. Em suínos, as lesões de casco são severas, principalmente em criações intensivas em piso de concreto.

A seguir algumas ilustrações relativas aos aspectos clínicos da febre aftosa.

Salivação.



MAPA, 2009

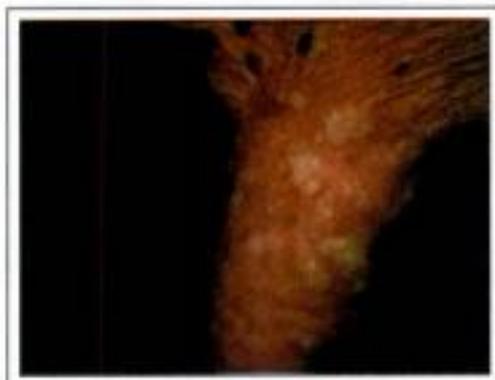
Lesões de casco em suíno.



ADAB



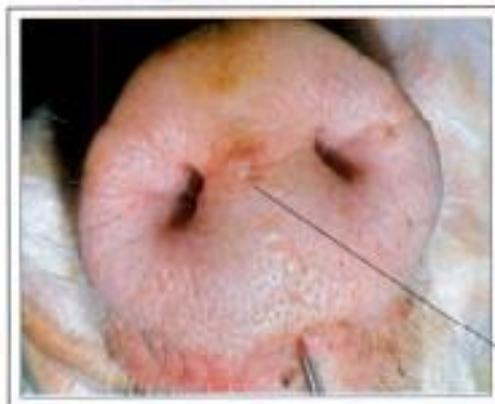
Úlceras na gengiva em cicatrização.



Úlceras no teto.



Descolamento da coroa do casco.



Vesícula não rompida no focinho de suíno.

Úlceras depois
do rompimento
de vesículas
com infecção
secundária.



Pequenas
vesículas
não rompidas
em ovinos.



FOTOS: <WWW.DEFRA.GOV.UK>

8.12 Diagnóstico laboratorial

Representado pelo isolamento do vírus ou pela demonstração do antígeno viral ou do ácido nucleico em amostras de tecidos ou de fluido. A detecção de anticorpos humorais pode também ser empregada para fins de diagnóstico. O sorodiagnóstico está sendo utilizado nas atividades de vigilância ativa para comprovação de ausência de atividade viral em áreas livres com vacinação, como é o caso da prova de ELISA, utilizada como prova de triagem.

8.13 Diagnóstico laboratorial direto

- Identificação do agente:** a demonstração do antígeno viral é suficiente para um diagnóstico positivo. Em razão da elevada contagiosidade e importância econômica da doença, o diagnóstico laboratorial e identificação do sorotipo do vírus devem ser conduzidos em laboratórios que atendam aos requisitos da OMSA (nível 4 para biossegurança). A identificação viral é realizada por isolamento ou por métodos imunológicos, como a

prova de ELISA, fixação de complemento, reconhecimento de ácido nucleico (PCR-RT), microscopia eletrônica.

ELISA detecta antígeno viral e identifica o sorotipo, é método indireto de sanduíche e emprega os sete sorotipos conhecidos. Dependendo da espécie animal afetada e da origem geográfica das amostras, é apropriado que se teste simultaneamente para doença vesicular de suínos e para estomatite vesicular. É um teste bastante rápido, demandando menos de dois dias para a obtenção de resultado.

Fixação de complemento vem sendo substituído, em muitos laboratórios, pela prova de ELISA em face da maior especificidade e sensibilidade e por não ser afetada pelo fator pró ou anticomplemento. Se a amostra for inadequada ou o resultado se revelar inconclusivo, torna-se necessário o enriquecimento do vírus em cultivo celular ou em camundongos lactentes de 2 a 7 dias de idade. A cultura deve ser, de preferência, primária de tireoide bovina; porém, podem ser empregadas células renais de suínos, ovinos ou de bezerro ou linhagens celulares de sensibilidade comparável. Quando ocorre efeito citopático em cultivo, o fluido pode ser utilizado em provas de fixação de complemento ou de ELISA. Provas semelhantes podem ser realizadas com suspensão homogeneizada de tecido muscular esquelético dissecado de camundongo inoculado e morto.

Teste de reconhecimento de ácido nucleico é a reação em cadeia de polimerase por transcrição reversa (PCR) e útil para a amplificação de fragmentos do genoma do vírus da febre aftosa, presente em amostras de diagnóstico. *Primers* específicos têm permitido a distinção dos sete sorotipos conhecidos. A hibridização *in situ* também tem sido desenvolvida para a investigação da presença do vírus da febre aftosa em amostras de tecidos e está sendo cada vez mais utilizada. A epidemiologia molecular da febre aftosa é realizada pela comparação das diferenças genéticas entre os isolados de vírus. Existem publicações em que dendrogramas revelam a relação genômica entre estirpes de vacina e os sete sorotipos do vírus baseada nas sequências derivadas do gene ID. A metodologia rotineiramente preferida é a de PCR-RT (transcriptase reversa) com amplificação do RNA

do vírus da febre aftosa, que gera sequência de dados para realizar comparações. Laboratórios de referências possuem banco de dados de mais de 3.000 sequências.

Microscopia eletrônica de material de lesão pode ser utilizada para diferenciação de febre aftosa de outras doenças virais.

- **Material para ser enviado ao laboratório:** de preferência, epitélio de vesículas íntegras ou recém-rompidas; conteúdo da vesícula; amostras de esofagofaringe, de leite ou de sangue, são suficientes para o estabelecimento do diagnóstico.

Recomenda-se o envio de pelo menos 1 grama de tecido epitelial de vesícula íntegra ou recém-rompida. Para facilidade de manuseio de animais na fase aguda e para proteção dos profissionais é recomendada a sedação dos animais. Em caso de ocorrência de casos fatais, podem-se enviar amostras de sangue, coração ou outros órgãos. O material colhido deve ser acondicionado em frasco com glicerina adicionada de solução tampão fosfatada (0,04 M e pH 7,2 – 7,4) preferencialmente adicionada de antibiótico [penicilina (1.000 UI), sulfato de neomicina (100 UI), sulfato de polimixina B (50 UI), micostatina (100 UI)], na proporção de 1:1, e enviado ao laboratório. Em caso de não se dispor de salina fosfatada a 0,04M, pode-se recorrer a meio de cultivo de tecido ou solução salina tamponada com fósforo (PBS), mas é importante que o pH da mistura de glicerina-tampão esteja entre 7,2 e 7,6. O vírus da febre aftosa é extremamente lábil a pH baixo; portanto, tamponar o meio de transporte é um ponto crítico para o sucesso da colheita. Amostras devem ser enviadas ao laboratório sob refrigeração ou acondicionadas em gelo.

Embora o material de eleição seja o de vesículas, caso haja impossibilidade de obter esse material de ruminantes, como ocorre em casos clínicos avançados ou quando da suspeita de infecção na ausência de sinais clínicos, devem ser colhidas amostras de líquido esofagofaríngeo por meio do método do copo de *probang* (esputo) ou suabe de orofaringe de suínos devidamente sedados e colocados de costas em canaleta (tipo de necropsia) de madeira e com o pescoço estendido e utilizando instrumentos adequados como fórceps de artéria, para que o suabe possa atingir a parte posterior da boca e chegar à faringe. Pode-se enviar amostra de

sangue ou de miocárdio, ou, nos casos fatais, apenas de sangue. Antes da colheita de líquido da orofaringe de bovinos ou de grandes ruminantes (búfalos), 2 ml de líquido de transporte [composto por solução salina tamponada de 0,08M contendo 0,01% de albumina sérica bovina, 0,002% de vermelho de fenol, antibióticos (1.000 UI de penicilina, 100 unid/ml de micostatina, 100 unid/ml de neomicina e 50 unis/ml de polimixina) e o pH ajustado para 7,2] deve ser colocado em um frasco de capacidade aproximada de 5 ml, de material que suporte congelamento em dióxido de carbono sólido (gelo seco) ou nitrogênio líquido.

Após a colheita do material pelo *probang*, o conteúdo do copo deve ser transferido para um frasco de boca larga transparente com capacidade aproximada de 20 ml. O fluido deve ser examinado e conter algum material celular visível. Adicionar-se cerca de 2 ml desse material ao já separado 2 ml de líquido de transporte, tendo a certeza de que o material celular tenha sido transferido; a mistura é agitada suavemente e o pH final deve estar por volta de 7,6. Amostra com conteúdo ruminal pode ser inadequada para cultivo e, portanto, a colheita deve ser repetida, tomando-se a precaução de lavar e enxaguar a boca e a garganta do animal com água ou PBS.

Amostras de pequenos ruminantes são colhidos colocando-se 2 ml de líquido de transporte em um frasco de boca larga de cerca de 20 ml de capacidade; após a coleta, deve-se enxaguar o copo de *probang* com o líquido de transporte para transferir a amostra de orofaringe para um frasco de aproximadamente 5 ml de capacidade para fins de transporte. Esse pequeno frasco deve suportar congelamento em dióxido de carbono ou nitrogênio líquido. Amostras de fluido esofagofaringiano devem ser refrigeradas ou congeladas imediatamente após a coleta; caso sejam retidas por algumas poucas horas, deve-se congelar em dióxido de carbono sólido ou nitrogênio líquido antes do congelamento, e a seguir os frascos devem ser adequadamente selados com material selante ou silicone. É particularmente importante saber que, quando do uso de dióxido de carbono, a introdução de CO₂ em amostras de orofaringe abaixa o pH e inativa o vírus da febre aftosa. Frascos de vidro devem ser evitados, pois há o risco de explodirem quando do descongelamento, principalmente se

conservados em nitrogênio líquido. Todo material deve chegar ao laboratório preferencialmente ainda congelado, e, na sua impossibilidade, devidamente refrigerado.

- **Remessa/envio:** é de vital importância que as amostras sejam enviadas ao laboratório autorizado em condições seguras e em consonância com o regulamento internacional. Laboratório de referência para febre aftosa no Brasil: Lanagro Recife.
- **Diagnóstico anatomopatológico:** na necropsia são usualmente encontradas erosões deixadas pelas vesículas rompidas, tanto nos locais já indicados (língua, gengivas, bochecha, palatos duro e mole, lábios, narinas, focinho, coroa dos cascos, tetos, úbere, focinho dos suínos, córion das partes moles do casco e espaço interdigital) como na mucosa do esôfago e dos pilares do rúmen e no miocárdio (particularmente em animais jovens – coração tigrado).

8.14 Diagnóstico laboratorial indireto

A demonstração de anticorpos específicos para proteínas estruturais em animais não vacinados e acometidos de doença vesicular é suficiente para um diagnóstico positivo. A sorologia é particularmente útil quando se está diante de casos com manifestação clínica suave ou quando não se pode obter amostra de tecido epitelial. Testes indiretos direcionados para NSP (PNE) do vírus da febre aftosa são úteis, pois oferecem evidências de replicação viral passada ou presente no hospedeiro, independentemente da condição vacinal. As NSP (PNF), diferentemente das proteínas estruturais, são fortemente preservadas e, portanto, não são sorotipos específicos; conseqüentemente, a detecção desses anticorpos não se restringe a um sorotipo.

- **Vírus neutralização (VN) e provas de ELISA:** são métodos utilizados para detecção de anticorpos para proteínas estruturais e empregados, como testes sorológicos, sorotipo específico e para fins de trânsito internacional.

VN: é o método para analisar um vírus específico e depende de cultivo celular; portanto, é mais sujeito à variação que as provas de ELISA, mais demorado e sensível à contaminação.

ELISA: para detecção de anticorpos, tem a vantagem de ser mais rápido e independe de cultivo celular, pois pode utilizar antígenos inativados e dispensar laboratórios com biossegurança.

Tanto o ELISA de bloqueio como o de competição empregam como anticorpos sorotipo específico mono ou policlonal; além disso, são sensíveis e quantitativas. Resultado falso-positivo de baixo título é esperado em pequena proporção em soros submetidos a teste, razão pela qual tem sido empregada para fins de triagem e confirmação, realizada pela prova de VN, que minimiza a ocorrência de resultados falso-positivos.

A detecção de anticorpos antiproteínas não estruturais (PNE ou NSP) do vírus da febre aftosa vem sendo empregada para diagnosticar infecção presente ou passada por qualquer um dos sete sorotipos, sejam os animais vacinados ou não. Tradicionalmente têm sido medidos anticorpos contra antígeno viral associado à infecção (VIAA; proteína 3D RNA polimerase viral) pela imunodifusão em gel de ágar (AGID). Embora de baixa sensibilidade, a AGID é barata, fácil de ser executada e tem sido intensamente utilizada na América do Sul para detectar atividade viral em populações de animais durante programas de erradicação. Vem sendo substituída por outras provas como ELISA e Imunoblot, que medem anticorpos contra proteínas não estruturais.

EITB (*Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay*) tem sido amplamente utilizado na América do Sul em soroinvestigação e análise de risco associado a movimento de animais. Atualmente, está sendo empregada, para triagem, a prova de ELISA para anticorpos 3ABC e confirmada pelo EITB (soros que se revelam positivos ou suspeitos).

8.15 Diagnóstico diferencial

O principal diagnóstico diferencial da febre aftosa, no Brasil, é com a estomatite vesicular. As manifestações clínicas da febre aftosa, estomatite vesicular, doença vesicular dos suínos e exantema vesicular dos suínos são indistinguíveis. O vírus da estomatite vesicular inoculada intracerebralmente em cobaias e camundongos determina grave encefalite, procedimento importante para o diagnóstico diferencial. Merecem atenção no diagnóstico diferencial a peste bovina, doença das mucosas, IBR, língua azul, mamilite bovina, estomatite papular bovina e diarreia viral bovina (BVD).

Diagnóstico epidemiológico diferencial consiste no fato de a estomatite vesicular acometer bovinos e equinos, e a febre aftosa, apenas bovinos.

Clinicamente indistinguível da estomatite vesicular, doença vesicular do suíno ou exantema vesicular do suíno.

Outros diagnósticos diferenciais: peste bovina, doença das mucosas, rinotraqueíte infecciosa bovina, língua azul, mamilite bovina, estomatite vesicular bovina e diarreia viral bovina.

9 Cadeia epidemiológica

9.1 Fontes de infecção

9.1.1 Doente

Em áreas geográficas como o Brasil, onde se pratica a vacinação sistemática dos suscetíveis, as fontes de infecção mais importantes são os doentes atípicos e doentes em fase prodrômica.

9.1.2 Portador

- **Portador em incubação:** observado principalmente em vacas leiteiras, que eliminam o vírus pelo leite durante o período de incubação, e perdura até o final da doença.
- **Portador convalescente:** animais que eliminam o vírus por mais de 28 dias após a recuperação e na maioria dos bovinos não perduram por mais de 6 meses e até 30 meses, embora numa pequena proporção deles persista por mais de 6 meses. Em algumas situações existe o portador (bovinos vacinados que se infectam, eliminam o vírus por até 30 meses na ausência de sinais clínicos; em búfalos, por mais tempo; e em ovinos, por 9 meses). Búfalos domésticos, ovinos e caprinos são portadores convalescentes por poucos meses, e suínos não se tornam portadores.

9.2 Reservatório

Como animais reservatórios, os suínos e cervídeos são os únicos no Brasil.

9.3 Vias de eliminação

Secreção oronasal e urina durante a fase aguda da doença, pelo sêmen na fase de incubação (cerca de 4 dias antes do aparecimento de sintomas) e pelo leite, desde a incubação até o final da doença. Após a *recuperação clínica*, o vírus desaparece das secreções e excreções,

com exceção do líquido esofagofaríngeo de alguns ruminantes, com possibilidade de recuperação do vírus. Nas fezes e urina são detectados títulos baixos de vírus. Nas secreções e excreções, o vírus pode manter a infectividade por 4 a 5 dias, não ultrapassando 11 dias.

9.4 Vias de transmissão

Em ambientes de intensa aglomeração, o vírus é transmitido pelo contato íntimo entre animais fontes de infecção e suscetível (contágio direto e transmissão aerógena); contágio indireto pela água e alimentos contaminados com vírus. Também podem ser causas de transmissão o piso dos estábulos e dos veículos de transporte, as instalações zootécnicas, a palha da cama, as rações, os equipamentos e instrumentos de trabalho, as roupas de tratadores, assim como todo o material e objeto requerido para a criação desses animais (produtos cárneos e subprodutos – vísceras e resíduos de matadouro – cujo pH esteja acima de 6,0). A OMSA menciona que nas regiões temperadas pode ocorrer transmissão aerógena a distâncias superiores a 60 km (em terra) e 300 km (no mar).

O vírus pode, portanto, ser disseminado por uma grande variedade de mecanismos, incluindo o vento (não confundir com transmissão aerógena). Nesse contexto é preciso considerar não apenas a quantidade de vírus eliminado pela fonte de infecção como também a dose infectante mínima para cada espécie suscetível e para cada estirpe viral.

A difusão do vírus A da febre aftosa a grandes distâncias, por meio do ar, requer, entretanto, uma revisão crítica. A rápida disseminação, seguindo a direção do vento, é favorecida, antes de tudo, por uma temperatura inferior a 18°C, umidade relativa do ar superior a 70% e presença de grandes nuvens escuras e carregadas de umidade.

9.5 Porta de entrada

Mucosa da orofaringe.

9.6 Suscetíveis

Todos os animais biungulados são suscetíveis, mas a febre aftosa ocorre com mais frequência em animais jovens e também nos rebanhos leiteiros devido ao manejo, que implica aglomeração, e também em propriedades onde ocorre intensa compra e venda de animais.

10 Comunicante

É o animal que esteve exposto com risco de adquirir a doença, e como na febre aftosa existe o portador na fase de incubação e a morbidade é alta – quase 100% – sugere-se o seu sacrifício.

11 Profilaxia: medidas relativas

11.1 Fonte de infecção

Devido à alta transmissibilidade, é indicado o sacrifício, pois a febre aftosa acarreta elevados prejuízos em rebanhos.

11.2 Vias de transmissão

Estabelecer proteção de zonas livres, mediante controle e vigilância de deslocamento de animais nas fronteiras; desinfecção dos locais e de todo material contaminado; destruição dos cadáveres, camas e dos produtos dos animais da zona infectada.

A mitigação de risco associada à importação de carne de países afetados pela febre aftosa consiste no controle das propriedades de origem, inspeção de matadouros e desossa e maturação de carcaças. Essa avaliação é conduzida nos seguintes estágios da febre aftosa: período de incubação, fase da doença, convalescença e portador convalescente. O risco é consideravelmente reduzido quando existe adequado sistema de saúde animal, vigilância da doença, inspeção *ante mortem* e *post mortem* de todos os bovinos enviados aos matadouros durante o período de doença ou convalescença. Essas medidas são falhas se os animais se encontrarem na fase de incubação, pois sinais clínicos estão ainda ausentes, mas podem apresentar viremia e conseqüentemente o vírus pode estar presente nos tecidos musculares. A maturação de carcaças obtidas na fase de viremia reduz o risco de o vírus estar presente nas carcaças. Adicionalmente, a desossa e a remoção dos principais linfonodos e grandes vasos sanguíneos reduzem também a contaminação do tecido muscular. Embora sejam medidas de mitigação de risco, não se pode deixar de mencionar que esses procedimentos podem causar a contaminação das instalações e dos utensílios dos matadouros, valorizando indevidamente a maturação. Enfatizar a importância da vigilância em zonas infectadas ou em propriedades de origem para prevenir o envio de animais para abate no

período de incubação enquanto portadores é importante na disseminação do vírus na região e não na exportação (Sutmoller, 2000).

11.3 Suscetíveis

Vacinação com vacina tríplice aprovada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e segundo esquema estabelecido pelo serviço oficial do Departamento de Saúde Animal (DSA). De acordo com a OMSA, o controle da febre aftosa é usualmente de responsabilidade nacional.

11.4 Comunicante

Sacrifício.

12 Programa de erradicação de febre aftosa

O Brasil, sob a coordenação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e com a participação dos serviços veterinários estaduais e do setor agroprodutivo, segue na luta contra a febre aftosa, dentro da meta de sua eliminação do continente sul-americano até o ano de 2009, de acordo com Plano Hemisférico de Erradicação da Febre Aftosa (Phefa).

O Programa Nacional de Erradicação e Prevenção da Febre Aftosa (Pnefa) tem como estratégia principal a implantação progressiva e a manutenção de zonas livres da doença, de acordo com as diretrizes estabelecidas pela Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA).

A execução do Pnefa é compartilhada entre os diferentes níveis de hierarquia do serviço veterinário oficial, com a participação do setor privado, cabendo a cada um deles as responsabilidades destacadas no mapa 1 (vide página 38). Os governos estaduais, representados pelas secretarias estaduais de Agricultura e instituições vinculadas, responsabilizam-se pela execução do Pnefa no âmbito estadual.

Legislação de referência: Instrução Normativa MAPA nº 44, de 2 de outubro de 2007.

No mapa 1, abaixo, estão ilustradas as diferentes zonas do Brasil relativamente à situação epidemiológica.

MAPA 1

Situação sanitária do Brasil em relação à febre aftosa

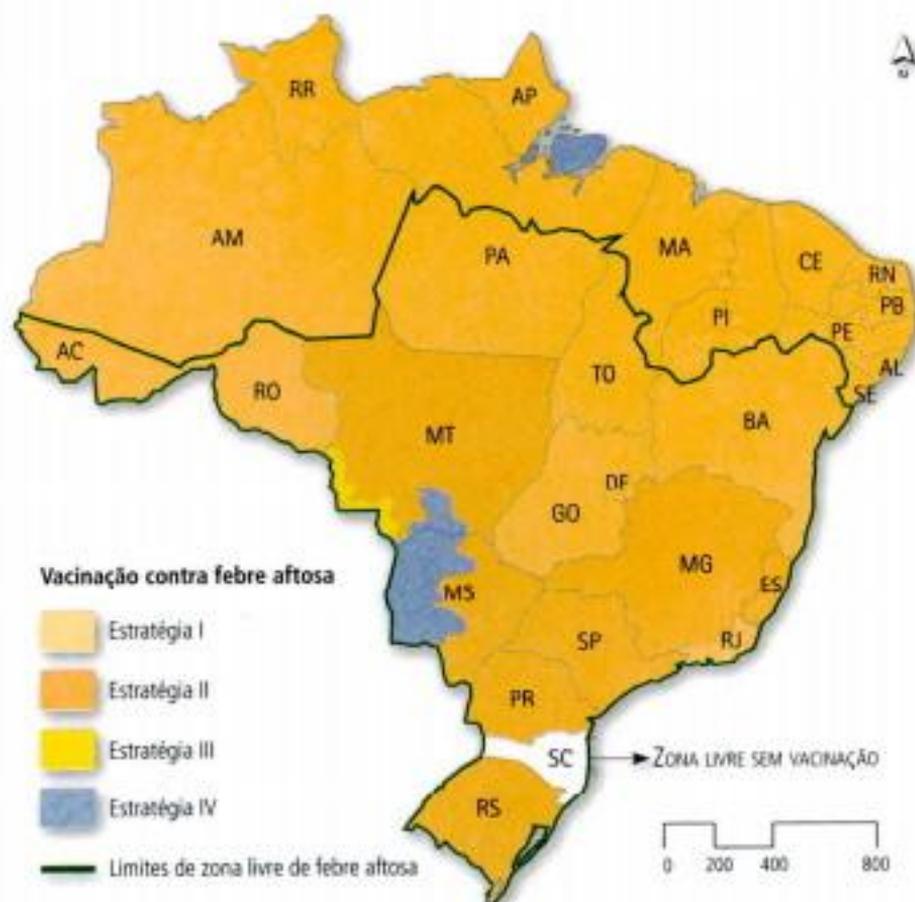


-  ZONA LIVRE DE FEBRE AFTOSA COM VACINAÇÃO
-  ZONA NÃO LIVRE DE FEBRE AFTOSA
-  ZONA TAMPÃO E ALTA VIGILÂNCIA
-  ZONA LIVRE DE FEBRE AFTOSA SEM VACINAÇÃO – SANTA CATARINA

Os esquemas de vacinação adotados pelos Estados são distintos, como se pode verificar abaixo, no mapa 2.

MAPA 2

Estratégias de vacinação aplicadas no Brasil

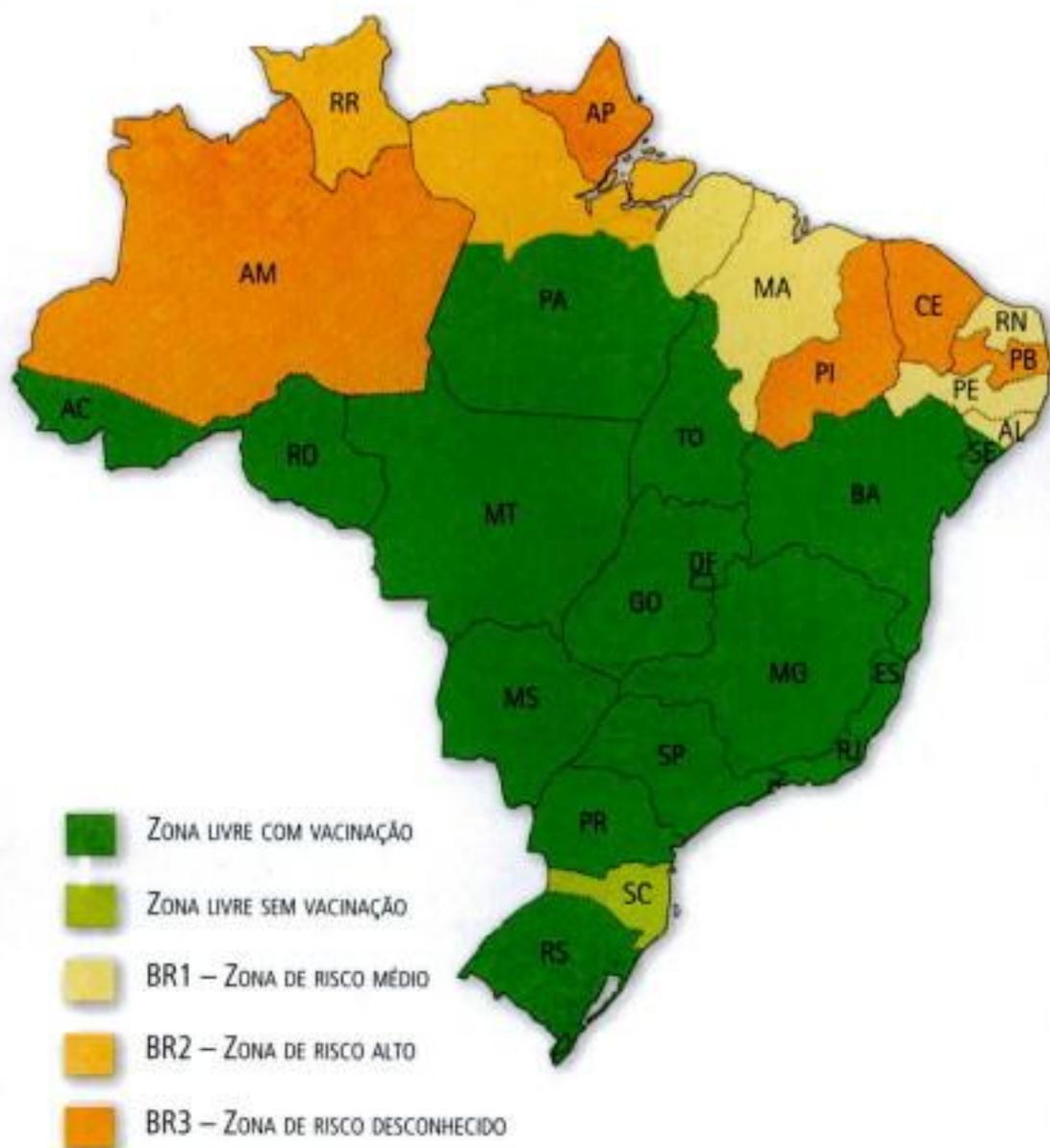


- Estratégia I** Vacinação semestral de todos os animais, em etapas com duração de 30 dias (inclui a Zona de Alta Vigilância do Mato Grosso do Sul).
- Estratégia II** Vacinação semestral de animais de até 24 meses de idade e anual para animais de mais de 24 meses.
- Estratégia III** Vacinação semestral de animais de até 24 meses de idade e anual para animais de mais de 24 meses; reforço para animais de até 12 meses; em etapas com duração de 30 dias (região da fronteira do Mato Grosso com a Bolívia).
- Estratégia IV** Vacinação anual de todos os animais, em etapas de 45 a 60 dias, em regiões onde as características geográficas possibilitam o manejo das explorações pecuárias apenas durante período limitado do ano (Pantanal e ilha do Marajó).

A classificação dos Estados do Brasil quanto ao risco de febre aftosa e área livre da doença está ilustrada abaixo, no mapa 3.

MAPA 3

Classificação dos Estados brasileiros quanto ao risco e à condição de área livre



Referências bibliográficas

- ALEXANDERSEN, S.; DONALDSON, A. I. "Further studies to quantify the dose of natural aerosols of foot and mouth disease virus for pigs". *Epidemiology and Infection*, v. 128, nº 2, 2002, pp. 313-323.
- ALEXANDERSEN, S.; ZHANG, Z.; DONALDSON, A. I. "Aspects of the persistence of foot-and-mouth disease virus in animals: the carrier problem". *Microbes and Infection*, v. 4, nº 10, 2002, pp. 1.099-1.110.
- ALONSO, A.; MARTINS, M. A.; GOMES, D. M. P.; ALLENDE, R.; SONDAHL, M. S. "Foot-and-mouth disease virus typing by complement fixation and enzyme-linked immunosorbent assay using monovalent and polyvalent antisera". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 4, 1992, pp. 249-253.
- AMAREL-DOEL, C. M. F.; OWEN, N. E.; FERRIS, N. P.; KITCHING, R. P.; DOEL, T. R. "Detection of foot-and-mouth disease viral sequences in clinical specimens and ethyleneimine-inactivated preparations by the polymerase chain reaction". *Vaccine*, nº 11, 1993, pp. 415-421.
- ASTUDILLO, V. M. "A febre aftosa na América do Sul". *Hora Vet.*, nº 70, 1992, pp. 16-21.
- BEER, J. *Doenças infecciosas dos animais domésticos*. São Paulo: Roca, 1999.
- BERGMANN, I. E.; MALIRAT, V.; NEITZERT, E.; PANIZUTTI, N.; SANCHEZ, C.; FALCZUK, A. "Improvement of serodiagnostic strategy for foot and mouth disease virus surveillance in cattle under systematic vaccination: a combined system of an indirect ELISA 3ABC with an enzyme-linked immunoelectro-transfer blot". *Archives of virology*, v. 145, 2000, pp. 473-489.
- BERGMANN, I. E.; MELO, P. A. de; NEITZERT, E.; BECK, E.; GOMES, I. "Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay with bioengineered non-structural viral antigens". *American Journal of Veterinary Research*, v. 54, nº 6, 1993, pp. 823-831.
- DIEGO, M. de; BROCCCHI, E.; MACKAY, D.; SIMONE, F. de. "The use of the non-structural polyprotein 3ABC of FMD virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle". *Archives of virology*, v. 142, 1997, pp. 2.021-2.033.
- DOEL, T. R.; BACCARINI, P. J. "Thermal stability of FMDV". *Archives of virology*, v. 70, 1981, pp. 21-32.
- DOEL, T. R.; COLLEN, T. "Qualitative assessment of 146S particles of FMDV in preparations destined for vaccines". *Journal of Biological Standardization*, v. 10, 1982, pp. 69-81.
- DONALDSON, A. I. "Quantitative data on airborne foot-and-mouth disease virus: its production, carriage and deposition". *Philosophical Transactions of the Royal Society* v. 302, 1983, pp. 529-534.
- EUROPEAN PHARMACOPOLIA 2ª ed. Monograph nº 63. Editions of the Council of Europe. Strasbourg, France, 1993.
- , 4ª ed. Seção 2.6.1. Editions of the Council of Europe. Strasbourg, France, 2002.

- FERRIS, N. P.; DAWSON M. "Routine application of enzyme-linked immunosorbent assay in comparison with complement fixation for the diagnosis of foot-and-mouth and swine vesicular disease". *Veterinary Microbiology*, v. 16, 1988, pp. 201-209.
- GEERING, W. A. *The diseases and their diagnosis*. Roma: FAO, v. 1, pp. 43-51.
- GOIC, R. "Historia de la fiebre aftosa en América Del Sur". Anais. Seminario Hemisférico sobre Sanidad Animal y Fiebre Aftosa. Panama: Confederación Interamericana de Ganaderos, 1971.
- GOLDING, S. M.; HEDGER, R. S.; TALBOT, P.; WATSON, J. "Radial immunodiffusions and serum neutralisation techniques for the assay of antibodies to swine vesicular disease". *Research in Veterinary Science*, v. 20, 1976, pp. 142-147.
- HAMBLIN, C.; BARNETT, I. T. R.; HEDGER, R. S. "A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA". *Journal of Immunological Methods*, v. 93, 1986, pp. 115-121.
- HAMBLIN, C.; KITCHING, R. P.; DONALDSON, A. I.; CROWTHER, J. R.; BARNETT, I. T. R. "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. 3. Evaluation of antibodies after infection and vaccination". *Epidemiology and Infection*, v. 99, 1987, pp. 733-744.
- HERBERT, W. I. "Multiple emulsions. A new form of mineral-oil antigen adjuvant". *Lancet*, v. II, 1965, p. 771.
- KITCHING, R. P.; DONALDSON A. I. "Collection and transportation of specimens for vesicular virus investigation". *Revue Scientifique et Technique. Office International des Epizooties*, v. 6, 1987, pp. 263-272.
- LYRA, T. M. P.; SILVA, J. A. *A febre aftosa no Brasil, 1960-2002*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 56, nº 5, 2004, pp. 565-576.
- MALIRAT, V.; NEITZERT, E.; BERGMANN, I. E.; MARADEI, E.; BECK, E. "Detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus by means of an indirect ELISA test using bioengineered non-structural protein 3ABC". *Veterinary Quarterly*, v. 20, nº 2, 1998, pp. 24-26.
- MACKAY, D. K. "Differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease". *Veterinary Quarterly*, v. 20, nº 2, 1998, pp. 2-5.
- MACKAY, D. K.; BULUT, A. N.; RENDLE, T.; DAVIDSON, E.; FERRIS, N. P. "A solid-phase competition ELISA for measuring antibody to foot-and-mouth disease virus". *Journal of Virological Methods*, v. 97, nº 1-2, 2001, pp. 33-48.
- MACKAY, D. K. J.; FORSYTH, M. A.; DAVIES, P. R.; BERLINZANI, A.; BELSHAM, G. J.; FLINT, M.; RYAN, M. D. "Differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease using a panel of recombinant, non-structural proteins in ELISA". *Vaccine*, v. 16, 1997, pp. 446-459.
- MAPA – Ministério da Agricultura/Serviço de Informação Agrícola. *Campanha contra a febre aftosa*. Brasília, 1964.
- MAPA – Ministério da Agricultura/Departamento Nacional da Produção Animal/Divisão de Defesa Sanitária Animal. Anais. Conferencia Nacional de Febre Aftosa. Rio de Janeiro, 1950.

- McVICAR, J. W.; SUTMOLLER, P. "Foot-and-mouth disease: the agar gel immunodiffusion precipitin test for antibody to virus-infection-associated (VIA) antigen as a tool for epizootologic surveys". *American Journal of Epidemiology*, v. 92, 1970, pp. 273-278.
- MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD. "Foot-and-mouth disease. Ageing of lesions". *Her Majesty's Stationery Office*, 1986.
- NEITZERT E.; BECK E.; AUGE DE MELLO P.; GOMES I.; BERGMANN, I. E. "Expression of the aphthovirus RNA polymerase gene in *Escherichia coli* and its use together with other bioengineered non-structural antigens in detection of late persistent infections". *Virology*, v. 184, 1991, pp. 799-804.
- OFFICE INTERNATIONAL DES ÉPIZOOTIES. *OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases*. Paris, 2002.
- PAIBA, G. A.; ANDERSON, J.; PATON, D. J.; SOLDAN, A. W.; ALEXANDERSEN, S.; CORTEYN, M.; WILSDEN, G.; HAMBLIN, P.; MACKAY, D. K. J.; E DONALDSON, A. I. "Validation of a foot-and-mouth disease antibody screening solid-phase competition ELISA (SPCE)". *Journal of Virological Methods*, v. 115, 2004, pp. 145-158.
- RODRIGUES, A. P. *A febre aftosa no Distrito Federal*. Paiz, 1910, pp. 1-8.
- ROEDER, P. L.; LE BLANC SMITH, P. M. "The detection and typing of foot-and-mouth disease virus by enzyme-linked immunosorbent assay: a sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis". *Research in Veterinary Science*, v. 43, 1987, pp. 225-232.
- SORENSEN, K. J.; MADSEN, K. G.; MADSEN, E. S.; SALT, J. S.; NQUINDI, J.; MACKAY, D. K. J. "Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus". *Archives of virology*, v. 143, 1998, pp. 1.461-1.476.
- STREBEL, K.; BECK, E.; STROHMAIER, D.; e SCHALLER, H. "Characterization of foot-and-mouth disease virus gene products with antisera against bacterially synthesized fusion proteins". *Journal of Virology*, v. 57, 1986, pp. 983-991.
- SUTMOLLER, P. "Importation of beef from countries infected with foot and mouth disease: A review of risk mitigation measures". *Revue Scientifique et Technique*. Office International des Épizooties, v. 20, n° 3, 2000, pp. 715-722.
- VAN MAANEN, C. "A complex-trapping-blocking (CTB) ELISA, using monoclonal antibodies and detecting specifically antibodies directed against foot and mouth disease types A, O and C. 1. Method and characteristics". *Veterinary Microbiology*, v. 24, 1990, pp. 171-178.
- WAGNER, G. G.; CARD, J. L.; COWAN, K. M. "Immunochemical studies of foot-and-mouth disease virus. VII. Characterization of foot-and-mouth disease virus concentrated by polyethylene glycol precipitation". *Arch. Ges. Virusforsch.*, v. 30, 1970, pp. 343-352.
- WOODBURY, E. L.; ILOTT, M. C.; BROWN, C. C.; SALT, J. S. "Optimization of an *in situ* hybridization technique for the detection of foot-and-mouth disease virus in bovine tissues using the digoxigenin system". *Journal of Virological Methods*, v. 51, 1995, pp. 89-94.

Influenza aviária

■ Introdução e histórico

O termo "influenza" foi inicialmente usado para descrever uma epidemia de febre catarral aguda e de rápida difusão em humanos. Alguns anos depois o agente foi caracterizado como um vírus da família *Orthomyxoviridae* e em seguida verificou-se que esse vírus também infectava uma diversidade de aves e de outros animais. Nas aves, a influenza aviária (IA) é descrita como uma doença infecciosa viral que acomete aves domésticas, aquáticas e silvestres e se caracteriza por uma grande variedade de alterações patológicas. Algumas estirpes não causam manifestação clínica e patológica e outras produzem sinais clínicos, lesões generalizadas e severas, atingindo até praticamente 100% de mortalidade. Nas formas mais agressivas, os tratos respiratório, entérico, reprodutivo e nervoso central são igualmente acometidos, e nas formas menos agressivas não há comprometimento do trato nervoso central. Atualmente existe mais de uma centena de sorotipos de vírus de influenza aviária identificados, que são genericamente classificados em dois grandes grupos: o de "baixa

patogenicidade" (IABP, ou LPAI, em inglês), quando causa pouco ou nenhum sinal clínico, e de "alta patogenicidade" (IAAP, ou HPAI, em inglês), quando produz sinais clínicos severos e alta mortalidade.

A classificação do vírus da influenza aviária em sorotipos e grupos ocorre por duas razões: a primeira é para compreender a enfermidade quanto às suas características gerais, principalmente epidemiológicas, e facilitar o controle; a segunda, para atender às exigências de mercados para o comércio internacional. Nesse contexto, a Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) define influenza aviária notificável (IAN) como uma infecção em aves causada por um vírus de influenza tipo A, subtipos H5 ou H7, ou, ainda, por qualquer tipo de vírus de influenza que apresente índice de patogenicidade intravenoso (IPIV) igual ou superior a 1,2 (ou, como alternativa, mortalidade de pelo menos 75%). Os vírus de influenza aviária notificáveis são adicionalmente divididos em dois grupos: vírus de influenza aviária notificáveis de alta patogenicidade (IANAP) e vírus de influenza aviária notificáveis de baixa patogenicidade (IANBP):

- **Vírus notificáveis de alta patogenicidade** são aqueles que apresentam índice de patogenicidade intravenoso (IPIV) em galinhas de 6 semanas maior que 1,2 ou causa mortalidade de pelo menos 75% em galinhas de 4 a 8 semanas infectadas pela via intravenosa. Vírus H5 ou H7 que não apresentam IPIV maior que 1,2 ou causem menos de 75% de mortalidade devem ser sequenciados para determinar se possuem múltiplos aminoácidos básicos no ponto de clivagem da molécula de hemaglutinina (HA0); se a sequência de aminoácidos for igual à observada nos isolados de IAAP, a amostra será considerada IANAP.
- **Vírus notificáveis de baixa patogenicidade** são todos os vírus de influenza A, subtipos H5 ou H7, que não são de alta patogenicidade pelos critérios descritos no item anterior.

As primeiras descrições possivelmente relacionadas com influenza aviária datam do século XVIII, porém são imprecisas e podem se confundir com surtos de outras doenças. Os primeiros registros confiáveis aparecem no século XIX, como podemos observar a seguir.

- 1078** – A influenza aviária foi descrita pela primeira vez na Itália por Perroncito, diferenciando-a das doenças respiratórias bacterianas.
- 1901** – O vírus da influenza aviária foi identificado como agente filtrável e posteriormente denominado vírus.
- 1924** – Diagnosticada nos Estados Unidos em frangos de corte, inicialmente no Estado de Nova York e depois em outros Estados (em 1929 foi detectada no Estado de Nova Jersey).
- 1955** – Agente etiológico caracterizado com sendo vírus da influenza e, a partir dessa data, foi detectada na América do Sul (Chile), América do Norte, norte da África, Europa e Ásia.
- 1983-1984** – O vírus foi relacionado com surtos severos ocorridos na região da Pensilvânia, nos Estados Unidos.
- 1993** – Descrito no México, o vírus foi caracterizado como H5N2 de baixa patogenicidade. Após vários meses, exacerbou sua patogenicidade, causando elevada mortalidade entre poedeiras comerciais do Estado de Puebla e em frangos de corte em Querétaro.
- 1994** – Diagnosticada no Paquistão, inicialmente em reprodutoras pesadas e depois em outras aves. O subtipo era H7 e a mortalidade, superior a 85%.
- 1994** – A doença foi descrita na Austrália e causada pelo vírus H7N4, resultando na eliminação de 310.000 reprodutoras de corte e de cerca de 1,2 milhão de ovos férteis.
- 1998** – Identificado o vírus H5N1 em Hong Kong, inicialmente em galinhas, com sacrifício de 1,5 milhão de aves, e posteriormente em seres humanos, com 4 óbitos entre 16 casos da doença (letalidade de 25%), cujo diagnóstico viral através de análise genética revelou ser originário de aves, e não resultante de recombinação entre vírus humano e aviário.
- 2002** – Detectado no Chile em perus, foi prontamente erradicado.
- 2003-2004** – Desde os últimos meses de 2003 e os primeiros de 2004 são descritas epidemias em Hong Kong, Coreia, Vietnã,

Japão e Tailândia, seguidas por Camboja, Laos, Indonésia e China, causadas por uma estirpe de alta patogenicidade do H5N1. Menos afetados foram Japão e Coreia, com surtos confinados em granjas comerciais, logo debelados graças ao rápido diagnóstico, seguido da adoção de medidas de erradicação e biossegurança. Tailândia e Vietnã foram os mais severamente atingidos, com disseminação dos focos por todo o país, incluindo extensas áreas rurais que se caracterizam pelos hábitos de criação livre de galinhas e patos, e os surtos continuam ocorrendo. Na China ocorreram surtos em mais de 31 províncias e municípios e o combate incluiu a vacinação compulsória de mais de 60% das galinhas criadas em pequenas propriedades. Camboja e Laos não apresentaram condições para combater a doença à semelhança da China em decorrência de carência de recursos e serviço oficial deficiente de vigilância epidemiológica. A Indonésia também não pôde controlar a influenza aviária por deficiência do serviço oficial.

Ficou caracterizado que as pandemias na Ásia apresentaram dimensões sem precedentes, pois até então epidemias pelo vírus de alta patogenicidade eram consideradas raras. Desde a primeira descrição em 1959 até 2004 apenas 21 episódios haviam sido descritos, na sua maioria na Europa e nos Estados Unidos, dos quais sete disseminaram-se para outras propriedades e apenas um ultrapassou fronteiras. Jamais haviam sido descritos surtos de tal gravidade, extensão geográfica e transmissibilidade. A maioria dos focos ocorreu em pequenas propriedades de criação informal de galinhas, mas também foi verificado em criações comerciais. Na Ásia foram eliminados mais de 120 milhões de galinhas, cifra que ultrapassou a soma de casos acumulados nas últimas quatro décadas em todo o mundo.

Novembro de 2004 a março de 2005 foi o período de maior ocorrência do H5N1, mas com a passagem da primavera para o verão no hemisfério norte os casos diminuíram. O declínio na ocorrência da doença foi atribuído à sazonalidade, mas isso se deve também, e principalmente, às medidas profiláticas maciças, com exceção da Tailândia, que continuou a apresentar surtos esporádicos, os quais passaram a ser controlados mais tarde. Outra característica de destaque dessa pandemia

foi a elevada virulência (severidade da doença) revelada pelo vírus H5N1 em aves aquáticas, normalmente reservatórios do vírus, e nas quais a doença era rara.

2005 a 2009 – A partir do surto que se iniciou em 2003-2004, o vírus de IAAP (H5N1) ocorreu em mais de cinquenta países: Afeganistão, Albânia, Alemanha, Arábia Saudita, Azerbaijão, Bangladesh, Benin, Burkina Faso, Camboja, República dos Camarões, China, Coreia do Sul, Costa do Marfim, Dinamarca, Djibuti, Egito, Espanha, Estados Unidos, França, Holanda, Hong Kong, Gana, Hungria, Índia, Indonésia, Inglaterra, Irã, Iraque, Israel, Japão, Jordânia, Casaquistão, Kuwait, Laos, Malásia, Mianmar, Nepal, Níger, Nigéria, Palestina, Paquistão, Polónia, República Tcheca, Romênia, Rússia, Sérvia e Montenegro, Suécia, Sudão, Tailândia, Togo, Turquia, Ucrânia e Vietnã. Na maioria dos países a doença já foi controlada, mas em alguns deles ela persiste até hoje.

2 Etiologia

A influenza aviária é causada por um vírus da família *Orthomyxoviridae*, que pertence ao gênero *Influenzavirus A*. Trata-se de um vírus RNA, envelopado, pleomórfico, às vezes filamentoso. Mede de 80 a 120 nanômetros (nm) e o genoma é composto por oito segmentos de hta simples que codificam dez proteínas. O fato de o genoma ser composto por RNA e segmentado facilita muito as alterações e a formação de variantes (subtipos). Prova disso é que já existem 144 conhecidos.

2.1 Tipos de vírus

Existem três tipos de vírus de influenza que são diferenciados pela composição das proteínas do núcleo e da matriz, tipos A, B e C. Todos os casos de influenza aviária são do tipo A. Os tipos B e C são encontrados em humanos. Os tipos A e B são mais suscetíveis a variações genéticas. O tipo C é mais estável e infecta praticamente só o homem. O tipo B infecta principalmente o homem, mas também foi isolado de alguns animais (não aves). Devido à grande

variabilidade desses vírus, ainda é feita uma subtipificação com base em antígenos de superfície, denominados hemaglutininas (H) e neuroaminidase (N). Entre os vírus de influenza que infectam aves, existem dezesseis (1 a 16) subtipos de hemaglutininas e nove (1 a 9) subtipos de neuroaminidase. Considerando que todo vírus terá na sua estrutura uma hemaglutinina e uma neuroaminidase, cria-se a possibilidade de 144 (16 x 9) diferentes subtipos, como mostra o quadro abaixo. Essa combinação é feita inteiramente ao acaso.

Hemaglutinina (H)	Neuroaminidase (N)
H1	N1
H2	N2
H3	N3
H4	N4
H5	N5
H6	N6
H7	N7
H8	N8
H9	N9
H10	–
H11	–
H12	–
H13	–
H14	–
H15	–
H16	–

Todos os vírus de influenza aviária são hemaglutinantes, ou seja, possuem receptores para hemácias. Essa característica facilita o diagnóstico e a diferenciação de algumas outras viroses. A determinação das hemaglutininas é realizada pela inibição da hemaglutinação

através do emprego de antissoros específicos para cada subgrupo. Somente em aves todas essas hemaglutininas e neuroaminidases foram encontradas. As outras espécies animais são infectadas por apenas algumas delas.

Uma nova proposta para nomenclatura do vírus foi sugerida pela OMSA, que também é válida para o vírus da doença de Newcastle. Um vírus isolado recebe nomes na seguinte ordem. Primeiro, o tipo do vírus (A, B ou C); segundo, o hospedeiro de origem (menos para o homem); terceiro, local de isolamento; quarto, número da amostra (quando houver); quinto, ano que o vírus foi isolado; sexto, subtipo baseado na H e N. Exemplo hipotético: *A/galinha/China/56/H5N1*. Essa proposta é bastante completa e informativa, porém muito longa, por isso nem sempre é usada.

Devido à composição lipoproteica do envelope, os vírus de influenza aviária não resistem por muito tempo às ações físicas do ambiente, nem à ação de detergentes e desinfetantes. Esse é um fato relevante para controle de surtos. Vazio sanitário de três a quatro semanas, antecedido de boa lavagem e desinfecção, é suficiente para eliminar vírus infectante. Isso tem-se verificado no controle de inúmeros surtos ao redor do mundo. O frio pode auxiliar na preservação do vírus, bem como a presença de matéria orgânica. No entanto, o vírus tem capacidade de se difundir rapidamente no lote e entre lotes. Ele apresenta fácil replicação e transmissibilidade, mas de moderada a baixa resistência no ambiente.

Todos os vírus de influenza aviária crescem em embriões de galinha, geram bons títulos. A inoculação em ovos embrionados para isolamento e multiplicação do vírus tem-se tornado universal. As amostras mais patogênicas podem matar o embrião e resultar em baixos títulos. Os embriões são inoculados com nove a onze dias, incubados a 37°C e quatro a cinco dias depois começam morrer. A maior concentração de vírus é encontrada no líquido alantoide, que, depois de colhido, é conservado a baixa temperatura e usado para estudos ou para vacinas. O vírus da influenza aviária também cresce em cultura de células primárias ou de linhagem. Fibroblastos de embriões de galinha e células de rim são comumente usados, bem como células de linhagem MDCK. A adição de tripsina ao meio pode aumentar a replicação do vírus, principalmente para os de baixa patogenicidade. Ainda podem ser usadas aves, principalmente

galinhas, para replicação em condições controladas. Não se recomendam aves aquáticas por causa da baixa taxa de replicação do vírus. Alguns mamíferos também podem ser usados, como cobaias, camundongos, macacos, suínos, gatos e outros.

2.2 Características de importância epidemiológica

2.2.1 Infectividade

Quanto à infectividade, os dois subtipos de maior importância são H5 e H7, que são altamente infectivos nas aves, mas não se replicam muito bem em células humanas. Por essa razão os casos humanos são muito raros. Porém, a alteração de especificidade para o hospedeiro pode ser facilitada por rearranjo de segmentos de genes de vírus de diferentes espécies animais. Tanto o vírus aviário como o humano podem facilmente infectar suínos (vaso de mistura para *shifts*); quando isso ocorre, abre-se a possibilidade de aparecerem estirpes de maior infectividade, patogenicidade e virulência para humanos. Embora haja evidências de que esse fenômeno tenha ocorrido, ele não é frequente.

2.2.2 Classificação segundo a patogenicidade

Conforme recomendação da OMSA, estirpe de alta patogenicidade, que é objeto de medidas de erradicação, é aquela que:

- inoculada em oito galinhas suscetíveis de 4 a 8 semanas de idade, provoca a morte de seis, sete ou oito delas. O inóculo é igual a 0,2 ml de uma suspensão diluída a 1:10 de líquido corioalantoide suspeito (livre de contaminação bacteriana) e observação por dez dias;
- cujas amostras H5 ou H7 não atendem aos requisitos do item anterior, mas apresentam sequência de aminoácidos do sítio de clivagem da hemaglutinina compatível com o vírus de alta patogenicidade da influenza aviária;
- não sendo H5 ou H7, mata de uma a cinco galinhas entre as inoculadas, desde que cresça em meio de cultivo celular isento de tripsina.

Embora a classificação de patogenicidade seja específica para galinhas, resultados semelhantes têm sido obtidos para aves da ordem

Galliformes. Todos os vírus de alta patogenicidade (AP) para galinhas têm sido de média patogenicidade (MP) para patos. A grande maioria dos subtipos são não patogênicos (NP) ou de baixa patogenicidade (BP). A patogenicidade é específica para a espécie hospedeira utilizada no teste.

2.2.3 Alteração de patogenicidade e afinidade por certos hospedeiros

O vírus H5N1 tem demonstrado mudanças na afinidade por hospedeiro e em seu perfil epidemiológico. A sua infectividade e virulência poderá ser mudada, tanto para animais como para humanos, em futuro imprevisível. Existem evidências de que epidemias estão se tornando endemias em população de patos domésticos na China e no sudeste asiático, e não será facilmente erradicado, ou mesmo controlado, em futuro próximo. Embora patos selvagens, cegonhas e outras aves migratórias tenham sérias implicações como reservatórios do H5N1, existem evidências de que a fauna silvestre seja vítima e agente.

Percebe-se que com o crescimento da patogenicidade aumenta também a morbidade em galinhas e perus e galiformes relacionados. A morbidade varia também com a idade das aves, condições do ambiente e infecções intercorrentes. No caso do vírus de MP, é frequente se observar alta morbidade e baixa mortalidade, mas pode chegar a 5% em ausência de infecções secundárias e em aves mais velhas. Na epidemia de 1999, ocorrida na Itália pelo vírus H7N1 (MP), pela presença de secundários, a mortalidade em perus jovens atingiu 97%. Com vírus de AP, a morbidade e a mortalidade podem chegar a 50%, 90% ou atingir até 100%. Aves silvestres raramente adoecem ou morrem.

2.3 Resistência do vírus

2.3.1 Ambiente

No ambiente em geral o vírus da influenza aviária é relativamente instável, não muito resistente, exceto quando protegido por secreções, matéria orgânica e baixa temperatura.

2.3.2 Agentes físicos

É inativado a 56°C em 3 horas ou 60°C em 30 minutos. Inativado também pela luz ultravioleta e radiação gama.

2.3.3 pH

Resiste razoavelmente bem às mudanças de pH, exceto em condições extremas.

2.3.4 Substâncias químicas

Inativado em condições isotônicas por agentes oxidantes, dodecil sulfato de sódio, solventes de lipídios e β -propiolactona.

2.3.5 Desinfetantes

Mesmo com pequena proteção por matéria orgânica, o vírus pode ser destruído por substâncias como aldeídos (formaldeído/gás ou glutaraldeído). Removida a matéria orgânica, é destruído por fenóis, íons de amônia (quaternário da amônia), agentes oxidantes (hipoclorito de sódio), ácidos diluídos (ácido cítrico), compostos fenólicos, hidróxido de sódio e hidroxilamina.

2.3.6 Sobrevivência em geral

Permanece viável por longo tempo em tecidos, secreções, fezes e água. Não sobrevive em ambientes secos, é mais estável em ambientes úmidos e à baixa temperatura. Sobreviveu por 105 dias nas fezes no inverno; 30 a 35 dias a 4°C; 7 dias a 20°C. Aviários aquecidos a 38°C por uma semana inativou o vírus.

2.4 Imunogenicidade

As proteínas mais imunogênicas e protetoras contra doença e mortalidade são as hemaglutininas (H). Os anticorpos são subtipo específico, neutralizam vírus do subtipo homólogo. *In vivo*, a proteção também é subtipo H específico e pode perdurar por períodos superiores a nove meses. Da mesma forma ocorre com os anticorpos contra antígeno da neuroaminidase (N), protege contra subtipo N homólogo em aves. Estes também protegem, mas são menos importantes que as hemaglutininas. Anticorpos contra proteínas internas, principalmente nucleoproteínas, não conferem proteção significativa contra doença e mortalidade. Existem evidências de que a imunização contra tais nucleoproteínas seja apenas parcialmente capaz de reduzir a replicação viral nos pulmões, na fase tardia da doença,

que é medida por linfócitos T citotóxicos. Apenas pequena redução na severidade da doença foi observada quando aves tiveram contato com vírus vivo H9N2 de baixa patogenicidade e foram desafiadas com H1N1.

Faltam estudos que demonstrem com mais detalhes a importância da imunidade materna na prevenção da doença. Observações de campo sugerem que aves com anticorpos maternos estão protegidas nas duas primeiras semanas de vida. Nem todas as aves respondem igualmente ao desafio. Níveis de anticorpos circulantes produzidos em galinhas são maiores que em perus, e perus produzem mais anticorpos que patos. Em algumas circunstâncias há dificuldade de detectar anticorpos circulantes em patos.

Imunidade de proteção pode ser induzida pelo uso de vacinas vivas ou inativadas. Porém, estas somente têm sido usadas em situações de alto desafio. Podem interferir no programa de monitoramento pela dificuldade de diferenciar anticorpos vacinais de anticorpos de desafio de campo e não há proteção cruzada entre subtipos. Ver mais detalhes no item "Controle e prevenção" (página 72).

2.5 Persistência do vírus H5N1 em população de aves

Em algum momento antes de 1997 a estirpe H5N1 começou a circular na população de aves domésticas de parte da Ásia, estabelecendo-se silenciosamente. À semelhança do que ocorre com os subtipos H5 e H7, o H5N1 causa inicialmente doença com sinais clínicos brandos, como penas arrepiadas, tosse discreta e redução da produção de ovos, que podem passar despercebidos. Após meses de circulação entre galinhas, o vírus sofre mutação para estirpe de alta patogenicidade, que pode levar à morte em 48 horas e chegar à mortalidade de quase 100%.

A persistência do vírus da influenza aviária na natureza deve-se à facilidade de mutação genética, amplo espectro de espécies de animais hospedeiros, reservatórios representados por aves de vida livre, disseminação de uma região para outra pela participação de aves migratórias.

3 Distribuição geográfica e prevalência

Existem inúmeras características importantes do vírus da influenza aviária, das quais uma é a alta adaptabilidade às espécies. Sabe-se hoje que ele infecta uma variedade muito grande de aves. Em mais de noventa espécies de aves de vida livre o vírus já foi isolado, incluindo treze ordens. Os surtos em perus e galinhas têm grande significado econômico, mas outras espécies comerciais também têm sido igualmente afetadas. A doença e/ou o vírus tem sido observada em: galinhas, perus, patos, codornas, faisões, gansos, maçaricos, cisnes, gaivotas, garças, pardelas, papagaios, periquitos, falcões, tendilhões, cacatua, entre outras. Aves aquáticas, silvestres e migratórias são as principais disseminadoras do vírus. Estas nem sempre desenvolvem a doença, mas replicam o vírus e facilmente o disseminam. Entre as aves domésticas, galinhas e perus são as mais suscetíveis e a mortalidade entre elas pode chegar praticamente a 100%. Entre as aves silvestres, os patos, por albergarem o vírus e nem sempre manifestarem a doença, tornam-se grandes fonte de infecção, principalmente quando migram. Monitoramento feito em patos do Canadá que migram para os Estados Unidos mostrou que 60% deles em menos de 1 ano já estavam positivos para o vírus de influenza aviária. Essas aves, ao migrarem, podem excretar grande quantidade de vírus e contaminar os novos ambientes, principalmente lagos. Na América do Norte o vírus foi isolado da água de lagos que aves migratórias habitavam temporariamente.

Além das aves, o vírus da influenza aviária pode infectar o homem e uma variedade grande de mamíferos, como: equinos, suínos, cães, gatos, cobaias, camundongos, macacos e outros. Estes parecem não ter muita importância na epidemiologia da influenza aviária.

Até 1997 não havia evidências de que aves fossem fonte de infecção de vírus de influenza para o homem. Porém, nesse mesmo ano foi comprovada a passagem de galinhas e patos para o homem do subtipo H5, mas numa frequência extremamente baixa. Mesmo assim resultou em alguns óbitos. A partir de 2003 houve uma pandemia do vírus H5N1, que se iniciou na Ásia (China, Tailândia, Vietnã e outros) e se disseminou pelo mundo, causando a morte de dezenas de milhões de aves.

Atualmente a difusão da influenza aviária está generalizada. O vírus se encontra em todos os continentes e foi isolado até mesmo em pinguins na Antártica. Nos países asiáticos, como China, Vietnã, Índia e outros, o vírus é endêmico, principalmente na população de aves aquáticas, o que torna difícil o controle. No Brasil, nunca foram notificados surtos de influenza aviária de alta patogenicidade causados pelos subtipos H5 ou H7. Também não existe diagnóstico clínico da doença por qualquer outro subtipo. Os vírus H1, H2, H3 e H4 já foram isolados de aves migratórias, porém estes não têm sido encontrados em aves comerciais. O fato de no Brasil nunca termos tido surtos de influenza aviária de alta patogenicidade pode estar relacionado a mais de um fator. A criação comercial está confinada e com razoável grau de biossegurança. A exploração comercial de anseriformes (patos e gansos) é pouco expressiva. A população de aves aquáticas silvestres no Brasil é pequena, e praticamente não há rota de migrações de aves aquáticas de outros países ou continentes para o nosso território.

A mortalidade está diretamente relacionada com o equilíbrio da relação hospedeiro/agente. Existe uma variação muito grande da patogenicidade entre estirpes envolvidas do vírus da influenza aviária, fazendo com que a mortalidade varie de 1% a 100%. Há uma correlação direta da mortalidade com a virulência, mas a literatura é escassa acerca dessa característica de importância epidemiológica de muitas das estirpes. Naturalmente, os fatores que interferem na variação de incidência global da influenza aviária são a distribuição de hospedeiros, mistura de hospedeiros de diferentes espécies, idade e densidade de aves, clima e temperatura que impactam a habilidade do vírus de se mover dentro das espécies e entre elas.

4 Importância econômica e de saúde pública

Alguns surtos, no mundo, em aves mostram que principalmente o H5N1 tem causado perdas elevadíssimas, destruindo a subsistência de muitas áreas rurais em que a população humana é diretamente dependente da avicultura informal. As perdas são igualmente elevadas na criação industrial. Na epidemia de 1924-1925, nos Estados Unidos, as perdas diretas ultrapassaram 1 milhão de dólares, gastos

com limpeza e desinfecção de 2.718 granjas, 8.140 veículos, 352.525 gaiolas de transporte e 124.997 objetos, incluindo equipamentos. Na epidemia de 1983-1984, também nos Estados Unidos, causada pelo vírus de alta patogenicidade (H5N2), ocorrida nas regiões da Pensilvânia, Virgínia e Nova Jersey, o governo gastou cerca de 63 milhões de dólares, dos quais 40 milhões com indenizações no abate de mais de 17 milhões de aves e desinfecção de 449 granjas. Os proprietários absorveram prejuízo de 15 milhões de dólares. O mais importante: estima-se que, se o governo federal não tivesse implantado imediatamente o programa de erradicação, o prejuízo estimado seria da ordem de 500 milhões de dólares pelas perdas dos proprietários e 55 bilhões aos consumidores.

Mesmo surtos com cepas de baixa patogenicidade (H9N2), como em perus no Estado de Minnesota, nos Estados Unidos, de 1978 a 1995, acometeram mais de mil granjas, causando prejuízos acima de 20 milhões de dólares. Na epidemia de 1999-2000 na Itália, com vírus de alta patogenicidade (H7N1), o governo pagou 100 milhões de dólares para os criadores em indenização de 18 milhões de aves sacrificadas de 413 granjas, e o total de perdas indiretas foi de 500 milhões de dólares. Na Holanda foram eliminadas cerca de 30 milhões de aves, representando pouco mais de 30% do plantel de aves comerciais do país. No Canadá também foram eliminadas mais de 30 milhões de aves comerciais. Na epidemia de 1997 em Hong Kong, ocorrida em aves de feiras e mercado de aves vivas pelo vírus de alta patogenicidade (H5N1), o custo foi de 13 milhões de dólares para a população e indenização de 1,4 milhão de galinhas. Estima-se que em todo o mundo, até 2009, foram eliminadas mais de 250 milhões de aves em decorrência dos surtos de IAAP. Esses dados, por si sós, refletem quanto importante é a influenza para a avicultura, tanto industrial como de subsistência.

A importância econômica da influenza aviária na criação comercial de aves também pode ser medida pela preocupação que essa enfermidade causa aos criadores e às autoridades sanitárias dos países. Nenhuma outra enfermidade é mais controlada e mais monitorada no mundo que a influenza aviária. Todos os países possuem sistema de prevenção e controle, bem como legislações rigorosas, principalmente quanto à compra, venda e transporte de aves. Apesar de a IAAP estar ocorrendo em vários países, principalmente

asiáticos, a partir de 2008 houve um sensível declínio, e continua declinando em 2009.

A percepção de que a influenza aviária seja um problema de saúde pública está presente na população, embora os casos sejam um fato raro, pois são escassos os episódios em que o vírus da influenza aviária tenha manifestado transmissibilidade entre espécies, acometendo o homem. O vírus exibe adaptação à espécie transmitindo-se entre animais de mesma espécie e excepcionalmente entre espécies distintas muito próximas. Os casos humanos relatados são ocasionais e em número significativamente menor quando comparado às centenas de milhares de casos de influenza humana sazonal, causada por vírus adaptado ao homem, que ocorre anualmente e muitas vezes em forma de pandemia. A transmissão do vírus da influenza suína para humanos tem sido mais frequente que o da influenza aviária, embora também seja rara. Apesar de existir a possibilidade de um vírus da influenza aviária entrar na população humana, agrupar-se e estabelecer uma nova linhagem de vírus da influenza (infectante, patogênico e virulento), essa possibilidade de persistência no homem é bastante baixa. Por exemplo, dados da análise da sequência de nucleotídeos têm demonstrado que as cepas H2N2 de 1957 e H3N2 de 1968 de pandemias humanas resultaram de agrupamentos de três (HA, HA e PB1) e dois (HA e PB1) genes do vírus da influenza aviária com cinco e seis genes do vírus da influenza humana, mas depois disso não mais ocorreu.

5 Hospedeiros

Aves aquáticas silvestres são os reservatórios principais de todos os genes virais da influenza aviária. Estirpes patogênicas têm como hospedeiros naturais galinhas e perus, mas é razoável aceitar que todas as espécies de aves sejam susceptíveis. Entre as aves domésticas podem-se citar galinhas, perus, patos, codornas, faisões, gansos; e, entre as silvestres, patos, gansos, maçaricos, cisnes, gaivotas, garças e pardelas como as mais importantes. Também tem sido descrito isolamento viral em aves ornamentais de cativeiro, como periquitos, papagaios, falcões, tecelões, tendilhões, cacatuas etc. Entre as aves domésticas são mais suscetíveis os perus e as galinhas, e, entre as aquáticas migratórias, os patos.

Suínos têm sido propostos como um vaso de mistura para coinfeções pelos vírus humano e aviário com aparecimento de uma nova estirpe (reagrupada), com capacidade de infectar seres humanos e outros mamíferos. Porém, com os últimos episódios do H5N1 e H1N1, não foi possível envolver os suínos. O vírus da influenza aviária revela alto grau de adaptação à espécie de hospedeiro, com grande facilidade de disseminação intraespécies. A transmissão interespécies ocorre especialmente entre espécies estreitamente relacionadas na mesma família taxonômica, como galinhas, perus, galinhas-d'angola e codornas da ordem *Galiformes*.

6 Fatores predisponentes

Os diferentes vírus de influenza aviária possuem capacidade de infectar e causar doença. Porém, infecções intercorrentes, notadamente as que causam imunodepressão, como: doença de Gumboro, doença de Marek, anemia infecciosa das galinhas, micotoxicoses, e outras, como estresse ambiental e aglomeração de diferentes espécies e idades, predispõem à infecção. O homem tem alterado o ecossistema de aves pelas práticas de cativeiro, domesticação, agricultura industrial, comércio nacional e internacional e criação não tradicional, que estabelecem novos nichos para o vírus da influenza aviária e conseqüente variação da incidência e da distribuição geográfica. A migração de aves é também fator predisponente de suma importância, principalmente quando se considera a transmissão a longas distâncias.

Foram identificados cinco tipos diferentes de ecossistemas criados pelo homem: exploração industrial em integração; criação de aves de múltiplas espécies; livre comércio de aves vivas; criação de fundo de quintal, aves de *hobby* e de coleção; e sistema de comercialização de aves. Todos de certa forma favorecem o aparecimento, disseminação e persistência da influenza aviária. Na China e no sudeste asiático, a íntima proximidade entre humanos, aves aquáticas e suínos tem conduzido ao conceito de que essas regiões são o epicentro para as estirpes emergentes do vírus A da influenza. Assim, aves que migram para outras partes do mundo a partir do Oriente apresentam elevado potencial de disseminação de novas estirpes para populações de humanos e animais sem imunidade.

7 Patogenia e mortalidade

O vírus penetra no organismo da ave suscetível pela boca ou pela mucosa nasal. Com base nas evidências morfológicas e bioquímicas, o vírus da influenza aviária danifica as células do hospedeiro por dois mecanismos: necrose e apoptose. A necrose tem sido observada em muitas células, incluindo as dos túbulos renais, epitélio dos ácinos pancreáticos, miócitos cardíacos, células do córtex adrenal e células pulmonares de galinhas, e tem sido associada com a intensa replicação viral e pela demonstração de abundante nucleoproteína no citoplasma e no núcleo. *In vivo*, células apoptóticas (mortas) têm sido frequentemente observadas entre linfócitos, especialmente em ausência de replicação direta do vírus. Apoptose também tem sido observada em neurônios, epitélio respiratório e células alveolares dos pulmões em condições experimentais. Em embrião de galinhas, a apoptose e a necrose podem compartilhar semelhanças bioquímicas e com a indicação de que a diferenciação de ambas não está clara.

Apesar de o vírus da influenza aviária infectar uma grande variedade de aves, a permanência do vírus nelas nem sempre é muito longa, principalmente nas domésticas. Galinhas e perus eliminam o vírus em quatro a cinco semanas. Em alguns casos de surtos de campo, não foi possível recuperar o vírus de perus após 14 dias da infecção. Porém, esse comportamento muda significativamente com aves aquáticas (silvestres e domésticas), consideradas como os principais reservatórios naturais do vírus. Elas podem estar infectadas, até mesmo com mais de um sorotipo, eliminar o agente por longo período e não apresentar sinais clínicos da doença. E mais: a presença do vírus não garante soroconversão.

A capacidade do vírus de influenza aviária de causar doença, ou seja, a expressão de sua patogenicidade, é variável entre os diferentes subtipos. Varia desde ausência de sinais clínicos até sinais clínicos e lesões severas com elevadíssima mortalidade. No caso de surtos com alta mortalidade, todos têm sido causados pelos subtipos que possuem hemaglutinina 5 ou 7 (H5 ou H7), independentemente da neuroaminidase. Essas amostras existem na natureza, principalmente nas aves silvestres aquáticas, na forma de baixa patogenicidade, estão em equilíbrio com o hospedeiro e não causam doença. Quando esse vírus infecta aves comerciais, principalmente galinhas

e perus, após algumas passagens, por alteração na hemaglutinina, transformam-se em amostras de alta patogenicidade, com a capacidade de matar praticamente 100% das aves.

No caso de infecção por cepas de baixa patogenicidade, a multiplicação viral tende a ficar restrita aos sistemas respiratório e entérico. Quando a infecção é por cepa de alta patogenicidade (H5 ou H7), a multiplicação viral se torna sistêmica e as lesões são bastante evidentes nos tratos entérico, respiratório, reprodutor e nervoso central. Como já mencionado, suínos também podem ser fonte de contaminação de vírus para as aves. Porém, em todos os surtos envolvendo sorotipos com H5 ou H7 não há evidências de que suínos tenham participado da disseminação ou da permanência do vírus na região, nem foram considerados nos processos de erradicação.

O período de incubação é de um a três dias em uma ave, mas dentro de uma população ou lote o tempo de difusão pode ser de até duas semanas. Em condições experimentais, depende da rota de inoculação e principalmente da dose desafio. Inoculação intranasal de uma cepa H5N1 produziu sinais clínicos em 24 horas. É importante lembrar que muitos vírus de baixa patogenicidade causam infecção, mas não produzem sinais clínicos, nem mortalidade. Outros induzem sinais e mortalidade, que pode variar de 1% a 20%, dependendo principalmente de infecções concomitantes, ao passo que os de alta patogenicidade, independentemente de outras infecções, caracterizam-se por causarem sinais muito evidentes e mortalidade de mais de 50%, em alguns casos até próximo de 100%.

7.1 Diagnóstico

7.1.1 Diagnóstico presuntivo

A existência de influenza aviária de alta e de baixa patogenicidade exige um pouco mais de atenção para o diagnóstico, principalmente presuntivo. Vírus de baixa patogenicidade causam sinais respiratórios, como tosse, espirros, lacrimejamento, descarga nasal e, em menor intensidade, enterite. Esses sinais podem se confundir com várias outras doenças, principalmente respiratórias, como micoplasmose, Newcastle lentogênica, pneumovirose, bronquite, paramixovírus, laringotraqueíte, clamidiose e patologias entéricas. No caso de vírus de

alta patogenicidade, a severidade das lesões de hemorragias e necrose na crista, barbela, patas, enterite e sinais nervosos, acompanhados de alta mortalidade, é mais sugestiva de influenza de alta patogenicidade que outras enfermidades. Esta deve ser diferenciada da Newcastle, cólera aviária e intoxicações agudas com mortalidade. A confirmação da doença só pode ser feita pela detecção do vírus, que pode ser:

- **direta:** pela confirmação de proteínas e genes em tecidos, suaves, culturas de células e ovos embrionados; para isso se usam técnicas de captura de antígenos e técnicas moleculares; ou
- **por isolamento:** pela recuperação do vírus e determinação da patogenicidade; além disso, testes sorológicos como AGP, HI, SN e ELISA são úteis para confirmação do diagnóstico, embora eles não diferenciem anticorpos de surto de campo dos de vacinas.

7.12 Diagnóstico clínico

Depois de instalada a infecção, pode-se observar grande variedade de sinais clínicos; porém, nenhum deles é patognomônico de influenza aviária. A manifestação destes depende de vários fatores, como idade, *status* imune, infecções secundárias, fatores imunossupressivos (Gumboro, anemia, micotoxinas), fatores ambientais, e principalmente do patótipo de vírus envolvido e da espécie da ave.

No caso de doença causada pelo vírus de baixa patogenicidade, os sinais podem estar ausentes. Isso ocorre com mais frequência em aves silvestres e aquáticas. No caso de infecção de aves comerciais, como galinhas e perus, também pode haver ausência de sinais clínicos, mas com frequência as aves manifestam sinais relacionados com o sistema respiratório, digestivo e reprodutor. Os sinais respiratórios tendem a ser mais proeminentes e são: espirro, tosse, lacrimejamento, seios nasais inflamados, corrimento nasal e dificuldade respiratória geral. Prostração, baixo consumo de alimento e diarreia também podem ocorrer. Mortalidade pelo vírus de baixa patogenicidade geralmente é resultado de infecções secundárias associadas a fatores inadequados do ambiente e do manejo. Aves em produção diminuem a postura, e o surgimento de ovos deformados, de casca fina e sem pigmentação é maior. A mortalidade é geralmente baixa, mas a morbidade pode ser elevada, podendo agravar-se por fatores secundários.

No caso de doença causada por estirpes de alta patogenicidade (H5 ou H7), os sinais também podem estar ausentes em aves aquáticas e silvestres ou se assemelharem a quadro causado por vírus de baixa patogenicidade. No caso de infecção em galináceos, especialmente galinhas e perus, se o vírus H5 ou H7 estiver na condição de baixa patogenicidade, os sinais clínicos podem ser brandos, como descritos anteriormente. Porém, quando o vírus estiver no estado de alta patogenicidade, os sinais clínicos são muito intensos e de fácil identificação. Geralmente apresentam: prostração intensa, súbito aumento de mortalidade, crista, barbelas e pés com edema e cianose, hemorragias subcutâneas nas patas, nas coxas, na barbela e na crista e sinais nervosos de torcicolo e incoordenação. Em alguns casos muito agudos, alguns desses sinais não são observados, mas o que chama a atenção é a mortalidade súbita e elevada (mais de 50% em 72 horas). O consumo de alimento e de água é dramaticamente reduzido. Aves em produção diminuem a postura e esta cessa em poucos dias nas aves que sobrevivem. As aves ficam bastante quietas, diminuem significativamente a vocalização. A morbidade e a mortalidade sempre são muito altas, variam de 50% a 90% e em alguns casos chegam a 100%. O pico de mortalidade ocorre entre três e cinco dias do aparecimento dos primeiros sinais. No caso de aves em gaiolas, esse tempo pode variar de dez a quinze dias.

Mas é importante ter em mente que, tanto para vírus de alta como de baixa patogenicidade, as aves aquáticas e silvestres podem ou não apresentar sinais clínicos, e também a manifestação dos sinais é variável de acordo com estirpes de vírus dentro do mesmo subtipo. Nem todos os H5 ou H7 são iguais – eles podem produzir sinais clínicos mais ou menos intensos.

7.1.3 Diagnóstico anatomopatológico

- **Lesões macroscópicas:** da mesma forma que os sinais clínicos, as lesões patológicas no caso de infecção pelo vírus da influenza aviária são variáveis. Dependem de diversos fatores, mas três deles se destacam: espécie de ave envolvida, patogenicidade da amostra do vírus e infecções secundárias. No caso de amostras de baixa patogenicidade, as lesões podem estar ausentes ou presentes em diferentes graus de intensidade. Geralmente estão

associadas ao trato respiratório, no qual se podem observar: sinusite com catarro fibrino ou mucopurulento, mucosa da traqueia edemaciada e ocasionalmente hemorrágica com exsudato seroso a caseoso, aerossaculite fibrinosa ou fibrinopurulenta e pneumonia fibrinopurulenta. Essas alterações purulentas e fibrinosas no trato respiratório geralmente estão associadas a infecções secundárias por *E. coli*. Exsudato inflamatório também pode ser observado no oviduto, reduzindo o número de ovos e favorecendo a má calcificação. O ovário fica afuncional e regride. Outras lesões e a severidade delas podem aumentar, dependendo de infecções secundárias. Nas aves silvestres e aquáticas, raramente se observam lesões por vírus de baixa patogenicidade. Cepas altamente patogênicas podem causar mortalidade antes do desenvolvimento de lesões. Em perus e galinhas se observa uma variedade de lesões edematosas, hemorrágicas e necróticas nos órgãos viscerais e na pele. São comuns edema, hemorragia e necrose da barbela e da crista; edema da cabeça, edema e hemorragias subcutâneas; traqueíte edematosa e hemorrágica; pancreatite com áreas de necrose, necrose focal no baço, coração e rins; hemorragias no epicárdio, no músculo peitoral e na mucosa do proventrículo; pneumonia edematosa e hemorrágica, petéquias na gordura abdominal, serosa e mucosa de órgãos abdominais. Nos casos mais graves observa-se uma congestão generalizada dos órgãos. Da mesma forma que para cepas de baixa patogenicidade, as aves aquáticas silvestres ou migratórias nem sempre exibem lesões quando infectadas por um vírus de alta patogenicidade.

- **Lesões microscópicas:** podem ser variáveis, dependendo principalmente da patogenicidade da cepa envolvida e das infecções secundárias. A importância dos achados histopatológicos tem valor limitado, apenas como auxiliar no diagnóstico, pois, não havendo alterações patognomônicas, podem-se confundir com outras patologias. Amostras de baixa patogenicidade produzem a maioria das lesões no trato respiratório, que incluem: pneumonia linfocítica fibrinosa, traqueíte e bronquite com infiltrado heterofílico e linfocítico. Aves que morrem apresentam depleção dos órgãos linfoides: bolsa, timo e baço e acúmulo de linfócitos na traqueia. Amostras de alta patogenicidade causam intensa

inflamação e necrose em múltiplos órgãos, sendo os mais consistentes e severamente acometidos: miocárdio, cérebro, pâncreas, pulmão e tecido linfóide primário e secundário. No cérebro podem ocorrer meningoencefalite linfocítica com gliose focal, necrose neuronal e, ocasionalmente, edema e hemorragia, bem como necrose das miofibras dos músculos esquelético e cardíaco, dos túbulos renais e das células do endotélio vascular. Edema e hemorragias podem ser vistos em muitos órgãos, e a musculatura do peito, apresentar-se bastante congesta.

7.1.4 Diagnóstico laboratorial direto

Para detecção do vírus, tanto direta como por isolamento, podem ser usados suabes de traqueia, orofaríngeo, cloaca (tanto de aves vivas como mortas). Os suabes devem ser mantidos refrigerados e em meio de transporte. O vírus também pode ser recuperado de tecidos com lesões, secreções e excreções. Sempre incluir o trato respiratório, pois vírus de baixa patogenicidade podem não estar na forma sistêmica. Coletar o mais assepticamente possível e separar órgãos internos do intestino. Caso o processamento ocorra entre 48 e 72 horas após a coleta, manter a 4°C, ou congelar quando o processo for realizado após esse período.

- **Isolamento:** esta tem sido a técnica de referência e a mais usada para identificação viral. O macerado de órgãos ou o suabe tratado é inoculado na cavidade corioalantoide de embriões de galinha de 9 a 11 dias. Pode-se também inocular na cavi-

conhecidas. Para isso usa-se o líquido alantoide dos embriões no teste de ágar gel precipitação (AGP) contra antissoros específicos para cada uma das H e N. As H e N também podem ser determinadas usando os mesmos antissoros num teste de inibição da hemaglutinação.

- **Identificação direta:** esse procedimento vem substituindo em parte o isolamento e identificação viral, que é muito trabalhoso e demorado. Existem no mercado inúmeras técnicas e kits para detecção de antígeno em tecidos (imuno-histoquímica, imuno-fluorescência, ELISA por captura de antígeno e hibridização *in situ*). Porém, as técnicas moleculares RT-PCR e PCR em tempo real estão sendo usadas na maioria dos grandes laboratórios e vêm dando maior rapidez para obtenção do diagnóstico. A sensibilidade se equipara ao isolamento, e o resultado é dado em horas, e não em semanas, como é necessário para o isolamento e identificação. A identificação dos subtipos mais importantes como H5 e H7 também pode ser direta, sem a necessidade do isolamento.

7.1.5 Diagnóstico laboratorial indireto

Embora apenas a sorologia não sirva como diagnóstico, ela oferece informações complementares que podem ser muito úteis no acompanhamento epidemiológico. Vários testes podem ser utilizados, cada um dos quais segundo suas características. Anticorpos circulantes aparecem depois da primeira semana do surgimento dos sinais clínicos (7 a 10 dias). O AGP geralmente é realizado com antígeno das proteínas do núcleo-capsídeo. Neste caso detecta todos os vírus *influenza A*. O ELISA também pode detectar todos os vírus. O HI ou soroneutralização (SN) podem ser usados para fazer a diferenciação entre os subtipos. Perus e galinhas soroconvertem com altos títulos. No caso de patos, muitas vezes, mesmo após a infecção, os títulos são baixos ou inexistentes e podem não ser detectados por AGP ou HI. O ELISA é um teste mais sensível, capaz de detectar baixos títulos, ao contrário do AGP, que detecta somente títulos médios ou altos.



Prostração e diarreia.

Edema e
hemorragia de
cloaca.



Edema de crista,
barbela e olhos e
congestão de
crista e barbela.



FOTOS: CORNELL UNIV. COLLEGE OF VET. MED. (pp. 68-69)



Fezes diarréicas aderidas à cloaca.



Edema e congestão de crista e barbeta.



Manchas hemorrágicas nas pernas.



Edema de coxim plantar.

8 Epidemiologia

Entre as várias possibilidades de estabelecimento da infecção, em condições naturais, as rotas mais comuns são a digestiva e a respiratória. As evidências de que quando a infecção se estabelece o vírus se dissemina pela via horizontal são muito claras. Apesar de ele ter sido isolado de sêmen de perus, não há comprovação que a transmissão vertical seja importante como fonte de infecção e disseminação. Experimentalmente a infecção foi estabelecida por via intranasal, intrasinusal, intratraqueal, intramuscular, intrassacos aéreos, cloacal, conjuntival, intravenosa e oral.

O vírus pode ser transmitido por contato direto, facilitado pela proximidade entre fontes de infecção e suscetíveis, ou por contágio indireto, por via aerógena e fômites contaminados. A formação de aerossóis a partir de secreções oronasais torna a transmissão aerógena importante em decorrência da elevada concentração de vírus no trato respiratório, mas o elevado volume de fezes, mesmo com baixas concentrações de vírus, faz que fômites contaminados sejam também um dos mecanismos mais importantes de transporte e disseminação. Assim, o vírus é facilmente carregado para outros estabelecimentos por pessoas, através de calçados e roupas contaminadas. Existem registros demonstrando a eliminação do vírus através do ovo, até mesmo com nascimento de pintos infectados, mas essa via não parece ser tão importante na disseminação.

A transmissão entre espécies ocorre comumente. Ela é facilitada desde que sejam taxonomicamente muito próximas, mesma família, como galinhas, perus, galinhas-d'angola e codornas (ordem *Galliformes*, família *Phasianidae*). Com menor frequência pode ocorrer transmissão entre espécies que pertençam a ordens diferentes de uma mesma classe, como de patos-voadores (ordem *Anseriformes*) para perus (ordem *Galliformes*). Menos frequente é a transmissão entre espécies que pertencem a diferentes classes filogenéticas, como de galinhas para seres humanos.

As fontes de infecção envolvidas na introdução da influenza aviária num estabelecimento comercial (foco primário) podem ser várias, mas geralmente incluem: outras aves domésticas e confinadas;

aves aquáticas migratórias; suínos domésticos; e aves de companhia ou de estimação, como detalhado abaixo.

- a) Mercado de aves vivas pode facilmente disseminar vírus de baixa ou alta patogenicidade em granjas comerciais. Teoricamente seria por disseminação pela via aerógena, mas os surtos de 1983-1984 nos Estados Unidos pelo vírus H5N2 revelaram não ter sido possível isolar o vírus do ar a uma distância superior a 45 metros do foco. Essa observação sugere a importância da transmissão por contágio indireto via fômites, roupas e calçados. O contato humano com outras aves domésticas doentes também tem contribuído para a disseminação da doença.
- b) A introdução de vírus de média patogenicidade a partir de aves migratórias, principalmente aquáticas, está bem documentada. Fômites, calçados, roupas e equipamentos podem estar contaminados com vírus eliminados pelas fezes de patos. Essa transmissão em potencial enfatiza a necessidade de se esclarecer os criadores de aves sobre a importância epidemiológica das aves silvestres e sobre a separação das duas populações.
- c) Perus podem se infectar pelo H1N1 e por outros subtipos de origem suína, introduzidos via fômites ou pessoas infectadas. Tanto na Europa (Itália) como nos Estados Unidos existem evidências de que alguns surtos de influenza em perus com vírus de baixa patogenicidade estiveram relacionados com a criação de suínos.
- d) Vírus pode estar presente em aves martidas em quarentena. O subtipo H5 foi isolado, na Europa, de papagaios em quarentena importados da Tailândia.

8.1 Cadeia de transmissão

8.1.1 Fontes de infecção

Reservatórios (aves silvestres migratórias, aquáticas voadoras e suínos) e aves domésticas doentes ou contaminadas.

8.1.2 Vias de eliminação

Fezes, secreção nasal, lacrimal, conjuntival e carcaças mortas.

8.1.3 Vias de transmissão

Aerógena em situações de aglomeração e instalações fechadas e por contato via fômites, equipamentos, calçados e roupas. A via vertical parece não ser importante.

8.1.4 Porta de entrada

Mucosa do aparelho digestivo e respiratório em condições naturais. Experimentalmente, via intranasal, intrasinusal, intratraqueal, intramuscular, intrassacos aéreos, cloacal, conjuntival e intravenosa.

8.1.5 Suscetíveis

Potencialmente todas as aves domésticas e silvestres, mamíferos (especialmente os suínos) e, em condições muito especiais, o homem.

8.2 Profilaxia

8.2.1 Tratamento

Considerando populações de aves comerciais, não existe tratamento disponível para lotes infectados pelo vírus da influenza aviária. Hipoclorito de amantadine e hipoclorito de rimantadine, drogas humanas, experimentalmente, têm mostrado reduzir a mortalidade em animais. Mas não são usadas para aves pelo alto custo, rápido desenvolvimento de resistência e eficácia parcial. No caso de infecção pelo vírus de baixa patogenicidade, boas práticas de manejo e biossegurança podem contribuir para amenizar as perdas. O tratamento com antibióticos de largo espectro é recomendado apenas para controle de contaminantes secundários, principalmente do trato respiratório. Em casos de surtos com vírus de alta patogenicidade, a erradicação do vírus ainda é a melhor alternativa de controle, pois não há espaço para uso de tratamento.

8.2.2 Controle e prevenção

O controle da influenza aviária está fundamentado em dois grandes pilares: prevenção e erradicação. Todo o esforço por parte dos órgãos oficiais, e principalmente por parte da indústria, tem que ser direcionado às medidas preventivas. A estratégia maior é evitar

a ocorrência de surtos; porém, caso ocorram, a erradicação deve obedecer ao passo seguinte. Para isso, oficialmente, há necessidade de que sejam estabelecidas legislações não apenas no nível de Estado e país, mas também no do comércio internacional (ver mais detalhes em “legislação”). Outro elemento importante para o controle da influenza aviária é a educação, tanto dos produtores e técnicos como da população. A sua relevância está relacionada ao fato de a influenza aviária ser uma zoonose. Para o processo educativo é importante que haja uma interação entre órgãos oficiais, produtores e indústrias.

O procedimento-chave na prevenção da influenza aviária é a implementação das medidas de biosseguridade. O convencimento para o uso dessas medidas vem de entender as graves consequências de um surto e a complexidade da epidemiologia desse vírus. Deve-se evitar o contato de aves comerciais com aves aquáticas, sejam elas marinhas, silvestres ou migratórias, bem como o contato de aves de feiras de comércio com galos de briga, pois eles têm sido fontes importantes de vírus, e criação de aves de uma única espécie e idade usando o sistema *all-in all-out*.

É necessário que seja feita, além de monitoramento, a quarentena das aves importadas. Controle sanitário nos portos, aeroportos e fiscalização em fronteira seca deve ser constante, pois podem ser locais de entrada do vírus. Acompanhar a difusão da doença no mundo e conhecer o *status* sanitário dos países importadores também é uma necessidade. As instalações avícolas devem ter sua estrutura de isolamento e controle de fluxo de pessoas e veículos. Mesmo para aviários comerciais, é importante que tenham cerca de proteção, tela antipássaros e local para banho e/ou troca de roupa. Respeitar a distância entre aviário conforme a legislação é outro item fundamental, assim como o monitoramento (sorológico ou isolamento/molecular) periódico para aves comerciais e silvestre-migratórias. Em caso de detecção do vírus em aves comerciais, elas devem ser abatidas ou eliminadas e feita limpeza e desinfecção das instalações. Vários países têm demonstrado que a prevenção de influenza de alta patogenicidade se inicia com o controle dos sorotipos H5 e H7 quando de baixa patogenicidade.

No caso de surto em que haja comprovação do diagnóstico, o processo de erradicação deve ser desencadeado imediatamente.

Este se inicia pelo isolamento da propriedade, eliminação das aves e controle do fluxo de pessoas e veículos. As instalações devem ser lavadas e desinfetadas rigorosamente. Para repopulação, deve haver no mínimo três semanas de intervalo. O uso de aves-sentinela é desejado. A erradicação é recomendada para qualquer subtipo de vírus de influenza aviária que cause mortalidade significativa. Porém, a legislação, mesmo a da OMSA, que o Brasil segue, estabelece erradicação de vírus de alta patogenicidade, e mesmo H5 e H7, quando forem de baixa patogenicidade.

Países exportadores e de grande extensão territorial, como o Brasil, devem dividir sua área em regiões, para que, quando ocorra um surto, este seja isolado e o país todo não sofra as consequências, mas fique limitado apenas a região acometida. Ainda está em fase experimental a criação de compartimentos dentro de uma região. Com o aval da OMSA, o Brasil está sendo um país-piloto em estabelecer microrregiões ou compartimentos com o envolvimento de uma ou mais empresas. Para esta estratégia existe uma estrutura de isolamento e controle de fluxo de pessoas, aves, veículos e materiais, de forma que garanta a proteção, mesmo que haja um surto no país. Nesse caso as aves (produtos) do compartimento poderiam ser exportadas.

O uso de vacina tem sido parcialmente efetivo. As maiores dificuldades estão na ausência de proteção entre os diferentes sorotipos e na dificuldade de diferenciar anticorpos vacinais dos de surtos de campo, comprometendo o monitoramento sorológico. A vacina também previne sinais clínicos e mortalidade, mas não assegura ausência de infecção. No caso do Brasil, o uso de vacina tem que passar por aprovação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), mas hoje ela não está disponível. Portanto, para nós o foco é prevenção: havendo surto, o caminho é a erradicação sem o uso de vacina. Considerando a situação do Brasil, que nunca registrou surto de IAAP e é um grande exportador, há consenso de que em caso de aparecimento de influenza aviária a primeira alternativa seja a erradicação. O uso de vacina passa a ser uma opção quando existe dificuldade de controlar a disseminação da enfermidade. O uso de vacina também tem que vir associado a boas medidas de biossegurança, para que a sua aplicação seja temporária. Existem várias vacinas disponíveis no

mercado mundial. Vacinas inativadas, vacinas vivas e recombinantes – todas apresentam benefícios, mas também limitações. É por isso que seu uso não é de aceitação geral. Vários países estão desenvolvendo estudos sobre vacinas, principalmente na área molecular. É possível que num futuro próximo tenhamos disponíveis vacinas que efetivamente possam ajudar no controle dos surtos de influenza aviária com menos efeitos negativos.

O controle da influenza aviária no Brasil está regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento através do Plano Nacional de Prevenção da Influenza Aviária e de Controle e Prevenção da Doença de Newcastle, conforme Instrução Normativa SDA nº 17, de 7 de abril de 2006, que trata das “normas técnicas de vigilância para a doença de Newcastle e influenza aviária, e de controle e de erradicação para a doença de Newcastle”.

9 Legislação

9.1 Instrução Normativa SDA nº 32, de 13/5/2002

Estabelece as normas técnicas de vigilância para doença de Newcastle e influenza aviária e de controle e erradicação da doença de Newcastle. Referem-se:

1. Das exigências a serem cumpridas pelos estabelecimentos avícolas: registrado na SFA ou cadastrados no Serviço Oficial estadual de DSA.
2. Da notificação quando do conhecimento ou suspeita de ocorrência de influenza aviária.
3. Das estratégias de atuação através de medidas de vigilância da influenza aviária pela notificação de suspeita de focos da influenza aviária; assistência aos focos; adoção de medidas de biossegurança; realização de medidas de desinfecção; sacrifício sanitário; vazio sanitário; análise epidemiológica; vacinação de rotina ou emergencial dos plantéis; controle e fiscalização de animais suscetíveis; controle de trânsito; e outras medidas sanitárias.
4. Da assistência aos focos: medidas sanitárias quando da suspeita e da confirmação. Inclui medidas relativas à zona de proteção e zona de vigilância.

5. Da colheita de amostras e do encaminhamento para realização de provas laboratoriais.
6. Do diagnóstico laboratorial direto e indireto.
7. Do encaminhamento dos resultados laboratoriais.
8. Do estudo de atividade viral para doença de Newcastle e vigilância para doença de Newcastle e influenza aviária.
9. Das medidas de limpeza e desinfecção.
10. Do trânsito, do controle na incubação e das disposições gerais.

9.2 Instrução Normativa MAPA nº 17, de 7/4/2006

Aprova o plano nacional de prevenção da influenza aviária e de controle e prevenção da doença de Newcastle. Refere-se à regionalização segundo critérios geopolíticos dos programas e estabelece competências para os seguintes setores:

- I. Secretaria de Defesa Agropecuária: Departamento de Saúde Animal (DSA); Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (Dipoa); Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários (DFIP); Coordenação Geral de Apoio Laboratorial (CGAL); Coordenação do Sistema de Vigilância Agropecuária Internacional (Vigiagro).
- II. Superintendências Federais de Agricultura (SFA).
- III. Secretarias de Agricultura estaduais e seus órgãos de defesa sanitária animal.
- IV. Iniciativa privada.

Referências bibliográficas

- ALEXANDER, D. J.; BROWN, I. H. "Recent zoonoses caused by Influenza A viruses". *Revue Scientifique Technique*, v. 19, 2000, pp. 197-225.
- BUTLER D. "Drugs could head off a flu pandemic but only if we respond fast enough". *Nature*, v. 436, 2005, pp. 614-615.
- CHASTEL, C. "Emergence of new viruses in Asia: is climate change involved?". *Medecine et Maladies Infectieuses*, v. 11, nº 34, 2004, pp. 499-505.
- DUDLEY, J. P. "Wildlife and human implications of emerging viral zoonotic diseases in southeast Asia". *Recenti Progressi in Medicina*, v. 96, nº 11, 2005, pp. 523-534.
- HORIMOTO, T.; KAWAOKA, Y. "Pandemic threat posed by avian Influenza A viruses". *Clin Microbiol. Rev.*, v. 14, 2001, pp. 129-149.
- MATHER, T. N.; TELFORD, S. R. 3RD; MACLACHLAN, A. B.; SPIELMAN, A. "Incompetence of catbirds as reservoirs for the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*)". *Journal of Parasitology*, v. 75, 1989, pp. 66-69.
- MORAES, H. L. S.; SALLE C. T. P. "Influenza aviária", in: BERCHIERI Jr., A.; MACARI, M. *Doenças de aves*. Campinas: Facta, 2000.
- NICHOL, S. T.; ARIKAWA J.; KAWAOKA, Y. "Emerging viral diseases". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 97, 2000, pp. 12.411-12.412.
- OIE TERRESTRIAL ANIMAL CODE. 15ª ed. *Terrestrial Code*, 2006. Disponível em: <www.oie.int/eng/normes/en_m_code.htm>. Acesso em julho de 2006.
- PARRY, J. "Best defense against avian flu is to fight the virus in Asia". *Bull World Health Organ*, v. 12, nº 83, 2005.
- SAEED, A. A.; HUSSEIN, M. F. "Avian influenza". *Saudi Med. J.*, v. 27, nº 5, 2006, pp. 585-595.
- SUAREZ FERNANDEZ, G. "Natural history of Avian Influenza or 'chicken flu'. Present and future health analysis". *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, v. 122, nº 2, pp. 215-232, 2005.
- WEBBY, R. J.; WEBSTER, R. G. "Emergence of Influenza A viruses". *Philosophical Transactions of the Royal Society*, v. 356, 2001, pp. 1.817-1.828.
- WEBSTER, R. G. "Influenza: an emerging disease". *Emerging Infectious Diseases*, v. 4, 1988, pp. 436-441.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). "Avian influenza – situation in Viet Nam – update 27", 2005. Disponível em <www.who.int/csr/don/2005_08_05/en/index.html>. Acesso em 8/9/2005.
- . "Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A/(H5N1) reported to WHO", 2005. Disponível em <www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2005_08_05/en/index.html>. Acesso em 8/9/2005.

Doença de Newcastle

1 Introdução e histórico

A doença de Newcastle (DN) é uma enfermidade infecciosa viral causada por um grupo de vírus com patogenicidade variável. Os sinais clínicos e a consequência da doença podem ser de discretos a muito severos. Na sua forma de alta patogenicidade, a enfermidade é reconhecida oficialmente há quase um século e está amplamente difundida no mundo. Desde sua primeira descrição, recebeu vários nomes: peste aviária, pseudopeste aviária, peste aviária coreana, doença de Totelo, doença de Ranikhet e pneumoencefalite aviária. Pelo fato de alguns desses nomes se confundirem com outras manifestações clínicas, a denominação "doença de Newcastle" foi sugerida há mais de setenta anos e com o tempo tornou-se aceito em todo o mundo e é usado até hoje.

O vírus infecta uma grande variedade de aves domésticas e selvagens, e a doença é caracterizada por sinais respiratórios, digestivos e nervosos, que podem resultar em alta mortalidade. Apesar de a

infecção causar conjuntivite transitória em humanos e ser considerada uma zoonose menor, a grande preocupação com a doença se deve às perdas econômicas que causa à avicultura. A queda de produção e a mortalidade podem variar de inexpressivas a extremamente elevadas. Por esse motivo, entre todas as enfermidades aviárias, a doença de Newcastle é uma das mais temidas. As perdas podem ocorrer tanto em aves comerciais como em aves de fundo de quintal e até em aves de zoológico e de vida livre.

Pelo fato de o vírus da doença de Newcastle pertencer a um grupo com variado espectro de patogenicidade, é preciso definir a doença além da simples menção como infecção causada pelo *Paramyxovirus* aviário sorotipo 1, representado pela sigla inglesa (APMV-1). A definição mais aceita é a da Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA), que a define como infecção causada por um APMV-1 e atende a um ou aos dois critérios seguintes:

1. infecção causada por *Paramyxovirus* aviário do sorotipo 1 que cause um índice de patogenicidade intracerebral (IPIC) = ou > 0,7 em pintos (*Gallus gallus*) de 1 dia de idade;
2. o sequenciamento da proteína de fusão mostra que o vírus tem uma sequência de aminoácidos que se assemelha à de um APMV-1 altamente virulento, ou seja, múltiplos aminoácidos básicos na posição C da proteína F2 e fenilalanina na posição 117 que é o terminal N da proteína F1. Múltiplos aminoácidos básicos referem-se aos três últimos resíduos de arginina ou lisina entre as posições 113 e 116 da proteína de fusão. Esse critério, que é amplamente aceito, considera na doença de Newcastle apenas os vírus de alta patogenicidade, ou seja, os que causam mortalidade e elevadas perdas econômicas.

Quanto às primeiras ocorrências da doença de Newcastle, não estão claramente definidas. Acredita-se que tenha sido no continente asiático. Há indicações de sua presença antes da metade da década de 1920 no Oriente, na Indonésia e na Coreia. Porém, a descrição mais aceita, que identifica com clareza a doença de Newcastle, é a do surto que ocorreu em Java, na Indonésia, em 1926. Após essa data, parece que a doença se disseminou pelo mundo. Em 1927 foi descrita em Newcastle, na Inglaterra, e por isso é denominada "doença de Newcastle". Ainda nos anos 1930 foi demonstrado que nem todos os vírus

eram de alta patogenicidade. Amostras indistinguíveis sorologicamente causavam sinais respiratórios brandos ou de severidade variável, o que denominamos hoje “vírus de Newcastle lentogênico”. Entre 1940 e 1950 a doença de Newcastle foi reconhecida amplamente na Europa, no Oriente Médio e nas Américas. No final de 1960 e início de 1970 ocorreu uma nova difusão no Oriente Médio, a qual esteve associada à importação de psitacídeos por via aérea das Américas e do sudeste da Ásia. Também nos anos 1970 houve difusão para diversas partes do mundo de uma amostra adaptada em pombos (*Pigeon type* – PPMV-1), cujas exposições e comércio facilitaram a difusão.

2 Etiologia

A doença de Newcastle é causada por vírus RNA pertencente à família *Paramyxoviridae*. Essa família está dividida em duas subfamílias: *Pneumovirinae* e *Paramixovirinae*. A *Pneumovirinae* é composta pelos gêneros *Pneumovirus* e *Metapneumovirus*; e a *Paramixovirinae*, por cinco gêneros:

1. *Morbilivirus*: vírus da rubéola (protótipo) e da cinomose canina.
2. *Respirovirus*: vírus da parainfluenza humana e bovina.
3. *Rubulavirus*: vírus da caxumba humana.
4. *Henipavirus*: hendravírus (zoonose equina).
5. *Avulavirus*: vírus da doença de Newcastle, APMV-1 e outros APMV.

Dentro do gênero *Avulavirus* existem nove diferentes sorogrupos que infectam aves. Pelo fato de esse gênero até recentemente estar incorporado no grupo *Paramyxovirus*, os sorotipos ainda são denominados *Paramyxovirus*-1 a *Paramyxovirus*-9 (PMV-1, PMV-2 ... PMV-9).

Existe apenas um sorotipo de vírus que causa a doença de Newcastle, porém dentro desse sorotipo há uma variedade muito grande das cepas com diferentes patogenicidade e virulência. Por isso é possível classificar as amostras isoladas em cinco patótipos, conforme as suas capacidades de provocar sinais clínicos e mortalidade em galinhas.

1. Velogênico viscerotrópico – alta patogenicidade.
2. Velogênico neurotrópico – alta patogenicidade.
3. Mesogênico – baixa a moderada patogenicidade.

4. Lentogênico – baixa patogenicidade.
5. Entérico assintomático – baixa ou nula patogenicidade.

O vírus da doença de Newcastle possui envelope, o que o torna mais sensível aos agentes físicos e químicos como luz solar, luz ultravioleta, oxidação, pH, e à maioria dos desinfetantes. A resistência geral varia entre amostras, porém temperaturas de cozimento e fervura destroem todos imediatamente. Alguns isolados são inativados a 56°C em 5 minutos; outros necessitam de até 6 horas a essa temperatura. O cozimento de carne a 80°C destrói o vírus. Em carne de aves artificialmente contaminada houve redução de 90% quando submetido às seguintes temperaturas e tempos: 120 segundos a 65°C, 82 segundos a 70°C, 40 segundos a 74°C e 29 segundos a 80°C. Quando exposto à radiação solar, o vírus é inativado rapidamente. A dessecação também o inativa de maneira rápida. É importante ressaltar que, havendo proteção e presença de baixas temperaturas, o vírus pode resistir por longos períodos. Na penugem sobrevive mais de dois meses, e mais de três meses na superfície de ovos quando abrigado por matéria orgânica. Em aviário sem limpeza e desinfecção pode permanecer por vários meses. Em tecido animal também sobrevive por meses.

A estrutura viral apresenta dois tipos de projeção na superfície. Uma delas é formada por glicoproteínas, denominadas hemaglutininas e neuroaminidase (HN), cuja atividade principal é a hemaglutinação; a segunda, também formada por glicoproteína (F), tem a finalidade de receptor. É responsável pela fusão do vírus com as membranas da célula do hospedeiro e introdução do seu material genético nela. A propriedade de hemaglutinação das glicoproteínas HN decorre de essas terem receptores nas hemácias. Esse fato, associado à inibição específica por antissoros, tem sido usado como uma ferramenta importante para o monitoramento e diagnóstico, bem como para diferenciá-lo de outros vírus não hemaglutinantes.

O isolamento do vírus da doença de Newcastle pode ser feito numa variedade de culturas de células, porém o crescimento é melhor quando feito em ovos embrionados. As amostras para inoculação são preferencialmente suabes de traqueia, de cloaca e/ou macerado de traqueia e pulmão e vários outros órgãos que apresentarem lesões. Para mais detalhes ver o item "diagnóstico".

3 Distribuição geográfica e prevalência

A doença de Newcastle ocorre primariamente em aves de qualquer idade, porém os galináceos são mais suscetíveis, principalmente galinhas e em seguida perus. A presença do vírus, em condições de infecção natural ou experimental, já foi descrita em mais de 250 espécies de aves, representando 27 das 50 ordens existentes. Nem todas as espécies apresentam sinais clínicos ou são igualmente suscetíveis. Algumas aves, como o pato, pode albergar o vírus sem apresentar a doença e assim atuar como portador sadio. Muitas outras aves silvestres, principalmente aquáticas, também apresentam o mesmo comportamento. A maioria dos vírus encontrados nas aves silvestres é lentogênica, embora possam ocorrer cepas velogênicas, ou seja, virulentas. Algumas espécies de psitacídeos podem manifestar a doença e morrer, enquanto outras albergam o vírus e não manifestam sinais. Aves de zoológico também são suscetíveis, como os pinguins, que podem desenvolver a doença e morrer. Falcões, corujas, pombos, avestruzes, codornas, faisões, galinhas-d'angola, cacatuas, papagaios e pelicanos podem se infectar e apresentar sintomas variados. A doença também tem sido descrita em corvos. Desde o final dos anos 1990, uma nova estirpe tem sido descrita em epidemias em gansos na China, até então considerados resistentes à doença de Newcastle.

Além das aves, o vírus foi detectado em alguns mamíferos e répteis (serpentes), mas parece que estes não apresentam importância na persistência e disseminação do agente. No homem, o vírus da doença de Newcastle pode causar conjuntivite, mas esta é autolimitante e geralmente se manifesta quando da primeira exposição. Por essa razão ela é citada como zoonose menor. Nunca foi relatada a necessidade de hospitalização, nem ocorrência de sequelas nos casos observados. Pessoal de laboratório e equipe de vacinação são os mais comumente afetados. Trabalhadores de frigorífico raramente são acometidos. O consumo de produto de aves contaminadas não apresenta risco de saúde pública. Não há evidências de que o vírus passa do homem para o homem.

A doença de Newcastle (velogênica) está disseminada por praticamente todos os continentes, é endêmica em muitos países da Ásia, África, Oriente Médio, América do Sul, América Central e partes do México. Porém, na maioria desses países ela está presente fora da avicultura comercial. O vírus é mais frequentemente encontrado

em aves silvestres e de fundo de quintal. Vírus lentogênico é mais amplamente disseminado, até mesmo em algumas áreas de criação comercial. É encontrado em galinhas e perus nos Estados Unidos e esporadicamente no Brasil. Vírus mesogênico é também de distribuição cosmopolita, mas de ocorrência mais esporádica. Na América Latina, a doença de Newcastle foi descrita na década de 1950, e no Brasil presume-se que o vírus teria sido introduzido a partir da importação de aves infectadas ou pelas aves migratórias. A primeira descrição ocorreu em 1953, quando Cunha e Silva isolaram a amostra M33 na cidade de Macapá. Esse isolamento foi associado a um surto decorrente da importação, dos Estados Unidos, de carcaças de frangos congeladas. A partir dessa data a doença foi observada em todo o território nacional, ocasionando graves perdas econômicas para a avicultura brasileira. A partir do final dos anos 1970 e início da década de 1980, com a expansão da avicultura comercial, houve um esforço por parte da indústria para o controle da doença de Newcastle. O uso sistemático de vacina, associado aos cuidados de biossegurança, tornou-se muito eficiente no controle. O número de surtos foi reduzido significativamente com o passar dos anos. No Sul, por mais de vinte anos os frangos de corte não são vacinados. No Sudeste, Centro e Nordeste, em muitas áreas a vacina ainda é utilizada, mas o vírus não se encontra circulando.

3.1 Pandemias

Considerando as pandemias da doença de Newcastle que já ocorreram no mundo, pode-se agrupá-las em três classes.

3.1.1 Primeira pandemia

Foi descrita em 1926 (amostra asiática ou de Doyle) no sudeste asiático, que se disseminou pela Ásia e pelo Oriente Médio de 1926 a 1942. Há indicação de propagação para o restante da Europa, África e Américas entre 1940 e 1950.

3.1.2 Segunda pandemia

Teria iniciado no final da década de 1960, no Oriente Médio, com disseminação mais intensa que a anterior. Até 1973 a maioria dos

países de todos os continentes havia sido atingida em decorrência do intenso comércio aéreo de psitacídeos. Foram atingidas principalmente América do Sul, América Central e sudeste asiático.

3.1.3 Terceira pandemia

Teve início em 1970, no Oriente Médio, afetando pombos de competição pela forma neurotrópica (estirpe *Pigeon type*), disseminando-se por mais de vinte países (Europa, Canadá, Estados Unidos, Hong Kong e Sudão). Atingiu aves silvestres, domésticas e avicultura industrial. Em 1984, essa amostra causou na Inglaterra vinte surtos em frangos de corte. O vírus ingressou nas granjas através de ração contaminada por pombos que viviam na fábrica de ração.

3.2 Registros das últimas ocorrências da doença de Newcastle no Brasil¹

Nos anos marcados com asterisco a maioria dos diagnósticos foi baseada apenas em suspeita clínica. De 2006 a 2009 não houve registros de surtos de doença de Newcastle (velogênica) no Brasil: 1990*, 147 focos; 1991*, 51 focos; 1992*, 66 focos; 1993*, 66 focos; 1994*, 63 focos; 1995*, 2 focos; 1999, 1 foco; 2000, 3 focos; 2001, 3 focos; 2005, 1 foco; e 2006, 3 focos.

3.3 Registros das últimas ocorrências da doença de Newcastle no mundo, segundo a OMSA²

1999, 2000 e 2001 – BRASIL: houve registros de um, três e três surtos respectivamente.

2002 e 2003 – ESTADOS UNIDOS: foram notificados 302 e 630 focos respectivamente.

2005 – ÁFRICA: Botswana (galinhas de fundo de quintal).

EUROPA: Finlândia (perus em crescimento), França (pombos em crescimento), Grécia (galinhas de postura), Israel (galinhas

¹ Paulillo e Doretto Jr., 2009.

² Sabe-se que a doença de Newcastle ocorre com maior frequência em países da América do Sul, América Central, Ásia e África. Não há rigor nas notificações à OMSA.

de fundo de quintal), Eslováquia (pombos-correio), Macedônia (galinhas de criação extensiva).

2006 – EUROPA: Dinamarca (galinhas de postura), Inglaterra (fai-sões semisselvagens), Bulgária (galinhas), Azerbaijão (cisnes, pombos, pardal, estorninho), Chipre (galinhas e avestruzes), Romênia (galinhas de fundo de quintal), Suécia (galinhas de postura comercial), Ucrânia (matrizes, frango de corte e galinhas de postura).

2007 – ÁFRICA: África do Sul, Angola, Benin, Botswana, Burkina Faso, República dos Camarões, Costa do Marfim, Congo, Etiópia, Gana, Guiné, Guiné-Bissau, Ilha Maurício, Quênia, Kuwait, Lesoto, Madagascar, Moçambique, Namíbia, Ruanda, Senegal, Tanzânia, Togo, Uganda, Zâmbia e Zimbábue.

EUROPA: Albânia, Armênia, Bahrein, Brunei Darussalan, Bulgária, República Tcheca, Eritreia, Eslováquia, Estônia, Grécia, Itália, Romênia, Sérvia, Suécia.

ÁSIA: Arábia Saudita, Bangladesh, China, Irã, Iraque, Israel, Mianmar, Omã, Paquistão, Palestina, República Popular da China, Índia, Indonésia, Japão, Coreia, Malásia, Nepal, Filipinas, Rússia, Cingapura, Sri Lanka, Sudão, Turquia, Vietnã.

AMÉRICAS: Colômbia, Haiti, Honduras, México e Venezuela.

2008 – ÁFRICA: África do Sul, Angola, Benin, Burkina Faso, Congo, Etiópia, Gâmbia, Gana, Guiné, Guiné-Bissau, Madagascar, Malawi, Mali, Ilha Maurício, Moçambique, Namíbia, Níger, Nigéria, Quênia, Senegal, Togo, Uganda, Zâmbia, Zimbábue.

EUROPA: Albânia, Alemanha, Bélgica, Bulgária, Finlândia, Romênia, Rússia, Suíça, Suécia.

ÁSIA: Bahrein, Bangladesh, Brunei Darussalan, Índia, Indonésia, Irã, Iraque, Israel, Coreia, Kuwait, Líbano, Lesoto, Malásia, Mianmar, Nepal, Omã, Paquistão, Palestina, Filipinas, Qatar, Sri Lanka, Síria, Turquia, Vietnã.

AMÉRICAS: Bolívia, Canadá, Colômbia, Haiti, México, Peru, Venezuela.

2009 – Até maio foram registrados surtos nos seguintes países:

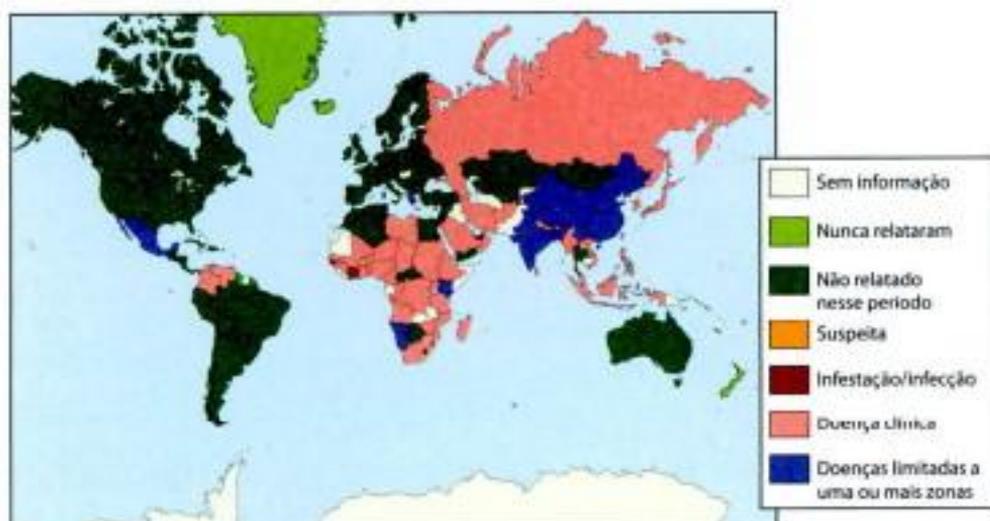
EUROPA: Alemanha, Bulgária, Holanda, Suécia, Croácia.

ÁSIA: Japão.

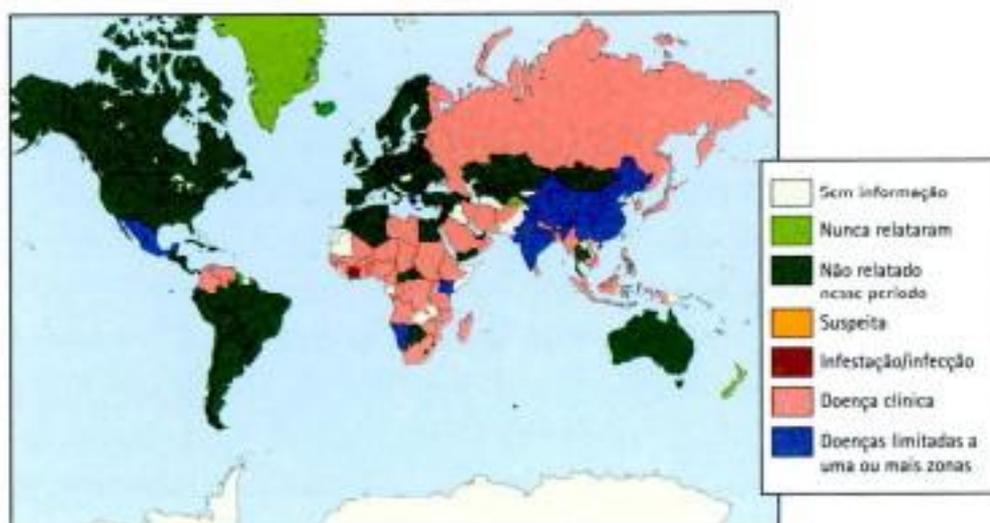
AMÉRICAS: Peru.

Conforme a OMSA, os mapas abaixo ilustram a distribuição da doença de Newcastle nas diferentes partes do mundo.

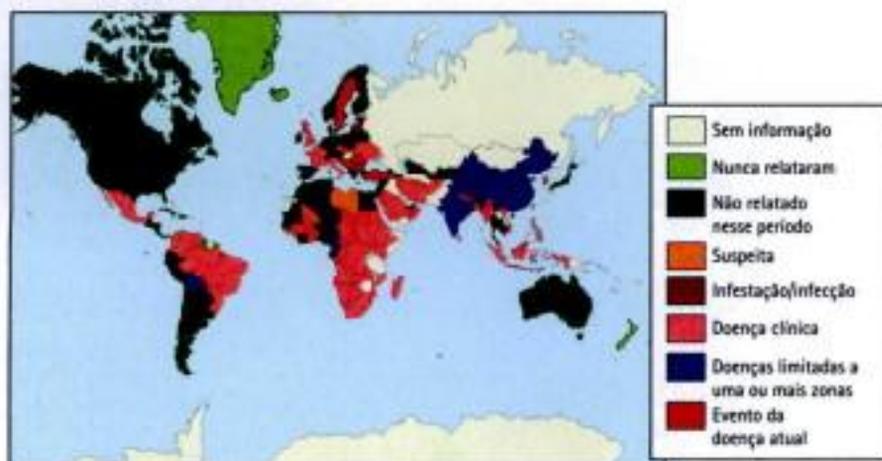
1º semestre de 2005



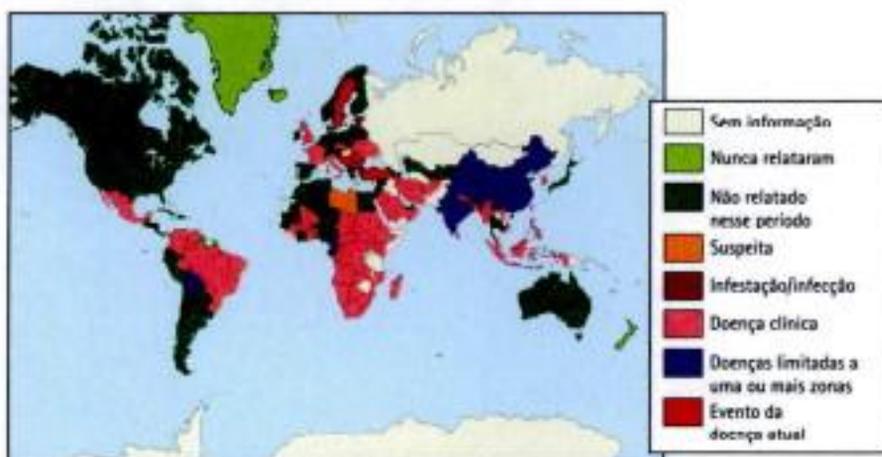
2º semestre de 2005



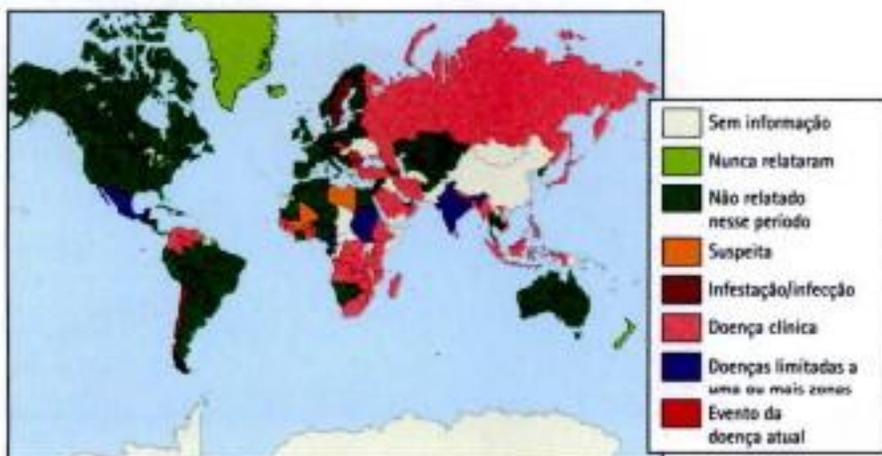
1º semestre de 2006



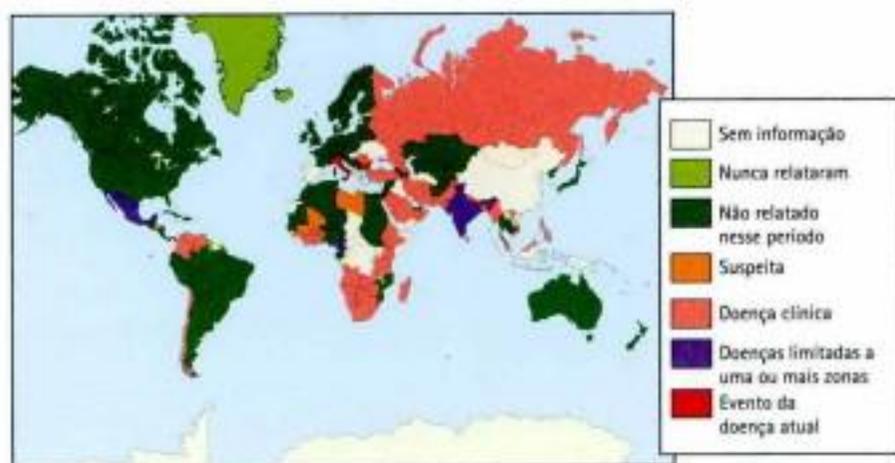
2º semestre de 2006



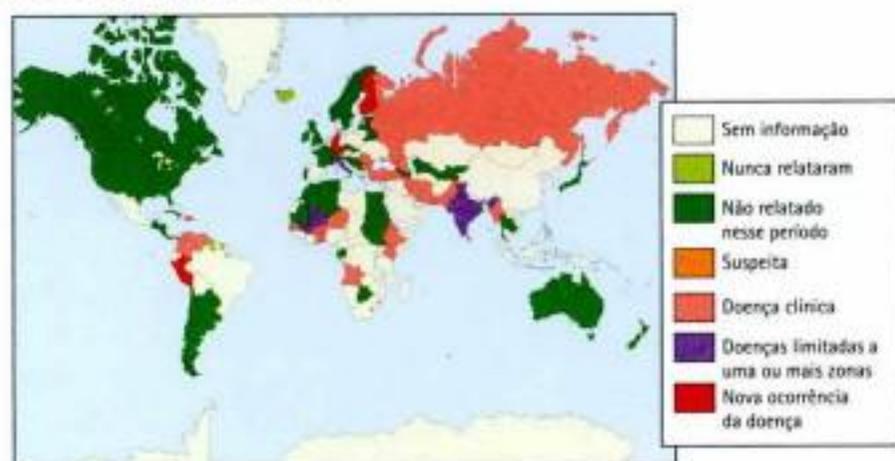
1º semestre de 2007



2º semestre de 2007



1º semestre de 2008



2º semestre de 2008



■ Até maio de 2009



4 Importância econômica e de saúde pública

Surtos da doença de Newcastle continuam ocorrendo em diferentes partes do mundo e com grandes consequências econômicas. Apenas, à guisa de exemplo, o ocorrido entre 2002 e 2003 nos Estados Unidos resultou na morte e/ou sacrifício de aproximadamente 3 milhões de aves e para indústria perda estimada de 5 bilhões de dólares. A doença de Newcastle, juntamente com a influenza aviária de alta patogenicidade, forma a dupla de enfermidades avícolas de maior impacto e/ou perdas econômicas. As perdas não se limitam à mortalidade, mas igualmente ou mais importantes são as restrições ao comércio de aves, ovos, carnes e derivados. Pelo fato de o vírus sobreviver na carcaça e ser preservado pelo resfriamento e congelamento, país nenhum importa, por determinado tempo, de regiões onde tenha ocorrido surto. Um surto da doença de Newcastle não controlado no Brasil certamente interromperia imediatamente as exportações e se transformaria em perdas vultosas para a avicultura nacional.

A regionalização, complementada pela compartimentação, conforme diretrizes da OMSA, é um recurso fundamental para se preservar ou intensificar o comércio internacional. País nenhum do mundo desenvolve avicultura comercial competitiva se não controlar efetivamente a doença de Newcastle.

O vírus da doença de Newcastle é capaz de infectar o ser humano. A evidência clínica da infecção fica restrita a uma conjuntivite benigna, transitória e autolimitante. Não há registros de fatalidade, e as hospitalizações são muito raras. A infecção pode ser causada tanto por amostra do vírus de campo como pela vacinal. Pessoal de laboratório e vacinadores são os mais expostos. Por essas razões a doença de Newcastle é considerada zoonose menor.

5 Hospedeiros

Muitas espécies de aves domésticas e silvestres são hospedeiros naturais do vírus da doença de Newcastle, sendo as mais importantes: galinhas, perus, patos, gansos, faisões, psitacídeos e aves migratórias. Galinhas são mais suscetíveis que patos e gansos. Psitacídeos e muitas espécies de aves silvestres são mais resistentes que outras, como os galináceos, e atuam, na epidemiologia da doença, como reservatórios sem apresentar a doença clínica.

Embora o maior impacto da doença seja observado em galinhas e perus, aves de estimação e de zoológico podem atuar como portadores de estirpes virulentas e introduzir o vírus em países indenes. Desde o final da década de 1990 uma nova estirpe tem sido descrita em epidemias em gansos na China, até então considerados resistentes à doença de Newcastle (CDFA, 2008).

5.1 Reservatórios

A persistência do vírus na natureza é favorecida pela presença de reservatórios domésticos e silvestres, como aves de fundo de quintal, silvestre-residente e silvestre-migratória. Vários estudos em diferentes partes do mundo têm confirmado essa ocorrência. Galinhas de fundo de quintal (Paquistão, Turquia e México); faisões de fundo de quintal (Chade, África); galiformes, columbiformes e avestruzes (Nigéria, África); gansos (China); avestruzes (Ohio e Indiana, nos Estados Unidos); aves de caça de vida livre (Alemanha); papagaios (Irlanda e Estados Unidos); e galinhas de lazer (Japão). No Brasil, tanto cepas lentogênicas como velogênicas têm sido isoladas de aves que migram da América do Norte. Papagaios importados da Amazônia foram responsabilizados pela introdução do vírus em surto ocorrido

nos Estados Unidos no início dos anos 1970. Atenção deve ser dada a aves ornamentais e exóticas, pois elas são menos estudadas, mas também representam risco. Passarinhos, especialmente canários, parecem ter importância menor na difusão da doença de Newcastle, pois raramente o vírus tem sido recuperado desse tipo de ave. Cordernas e perdizes dificilmente manifestam a doença clínica. Apesar de o vírus infectar o homem e causar conjuntivite benigna, não há evidência de que essa infecção tenha importância significativa na cadeia de disseminação e persistência do vírus no ambiente.

6 Fatores predisponentes

Os fatores predisponentes ao aparecimento da doença de Newcastle, na sua grande maioria, são comuns aos das outras enfermidades. O principal de todos certamente são as falhas de biosseguridade. Considera-se ainda de extrema importância evitar aglomerações, manter distância adequada entre criações, não criar aves em idades múltiplas no mesmo ambiente, nem de diferentes espécies. Um fator sobre o qual se tem menos controle, mas pode facilitar o aparecimento da doença de Newcastle, é criar aves em áreas de migrações ou de invernada. É recomendado telar os aviários para evitar a entrada de aves de vida livre.

Atualmente no Brasil grande parte da população de aves de corte não é vacinada, porém é submetida a monitoramentos periódicos e aos cuidados de biosseguridade. Por outro lado, as criações de aves de postura comercial iniciaram melhorias nas medidas de biosseguridade para atender à Instrução Normativa nº 56, de 4/12/2007 e, além disso, todas as aves são vacinadas.

7 Patogenia e mortalidade

A patogenicidade de um vírus é expressa pela sua capacidade de causar doença. Para isso é importante conhecer a cadeia de transmissão da infecção. No caso do vírus da doença de Newcastle, as portas de entrada do vírus mais comuns são a oral, a nasal e a ocular. Uma vez a ave infectada, o vírus invade o trato respiratório e digestivo, onde causa infecção generalizada. No caso de amostras mesogênicas e velogênicas, além da replicação do vírus no trato digestivo, respiratório e reprodutivo, ele pode se multiplicar e causar lesões no

sistema nervoso central (SNC). Aves de todas as idades são suscetíveis ao vírus da doença de Newcastle, porém as jovens infectadas com amostras velogênicas apresentam maior mortalidade que as adultas. Infecção em aves adultas, em idade reprodutiva, pode resultar em produção de ovos contaminados. No entanto, na maioria das vezes ocorre mortalidade embrionária. Quando alguns embriões contaminados eclodem, pode haver disseminação horizontal do vírus e manifestação clínica da doença nas primeiras semanas de vida.

Os vírus do grupo APMV-1 apresentam um grau muito variado de patogenicidade. Não há unanimidade em como classificar essas diferenças, porém a forma mais simples e recomendada pela Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) é a classificação em patogênicos e não patogênicos, baseada na inoculação intracerebral em pintos de 1 dia. Os patogênicos e considerados responsáveis pela doença de Newcastle são os que apresentarem um índice de patogenicidade intracerebral (IPIC) = ou > 0,7. Os que apresentarem IPIC menor são considerados não patogênicos ou não causadores da doença de Newcastle. Ver mais detalhes sobre IPIC no item "diagnóstico".

Outra classificação também aceita, porém com base na capacidade de provocar sinais clínicos e mortalidade em galinhas, reúne os APMV-1 em cinco grupos:

1. **Velogênico viscerotrópico:** vírus de alta patogenicidade, causa elevada mortalidade (as aves podem morrer antes da manifestação clínica em casos superagudos), edema ao redor dos olhos ou cabeça, diarreia esverdeada, apatia, prostração, alterações respiratórias (dispneia, descarga nasal e ocular, estertores) e morte. As lesões hemorrágicas intestinais e respiratórias são frequentes. O IPIC tende a ser sempre elevado, bem acima de 0,7 (1,5 a 2,0).
2. **Velogênico neurotrópico:** causa alta mortalidade, com sinais respiratórios severos, sinais neurológicos (torcicolo, tremores, ataxia, convulsão e paralisia das pernas e asas), queda drástica da produção de ovos, morbidade atingindo 100% e mortalidade variando de 50% a 90%. O IPIC tende a ser sempre elevado, acima de 0,7 (1,5 a 2,0).
3. **Mesogênico:** causa sinais respiratórios brandos, ocasionalmente sinais nervosos, queda na produção de ovos e baixa mortalidade. O IPIC tende a ser acima de 0,7 (1,2 a 1,5).

4. **Lentogênico:** infecção respiratória branda em aves jovens e ausência de sinais clínicos em adultas. A maioria das amostras vacinais são de cepas lentogênicas (B-1 e La Sota). Apresentam IPIC 0,4 ou inferior.
5. **Entérico:** infecção entérica sem manifestação clínica. Existem amostras vacinais de vírus de origem entérica (VG-GA, Ulster 2C). O IPIC é ao redor de 0,0 (zero).

7.1 Diagnóstico

7.1.1 Diagnóstico presuntivo

Para realizar o diagnóstico presuntivo da doença de Newcastle deve-se considerar a variação de patogenicidade.

- **Vírus lentogênicos:** caracterizam-se por induzir ao aparecimento de sinais respiratórios muito brandos. Podem-se observar tosse, espirros, lacrimejamento e leve descarga nasal. Esses sinais nem sempre são evidentes e podem passar despercebidos ou se confundirem com outros quadros respiratórios como micoplasmose, pneumovirose, bronquite, laringotraqueíte, clamidiose e reações vacinais.
- **Vírus velogênicos:** prostração, sinais nervosos, enterite, alta mortalidade e severidade das lesões de hemorragias internas levam a suspeitar de doença de Newcastle. Diferenciar de cólera aviária, influenza de alta patogenicidade e intoxicações agudas com mortalidade.

A confirmação da doença só pode ser realizada pela detecção do vírus, que pode ser:

- a) pela confirmação de presença de proteínas e genes em tecidos, suabes, culturas de células e ovos embrionados. Para isso recorre-se a técnicas de captura de antígenos e procedimentos moleculares;
- b) pelo isolamento, ou seja, pela recuperação do vírus e determinação da patogenicidade. Além disso, testes sorológicos como HI, SN e ELISA são úteis para confirmação do diagnóstico, embora eles não diferenciem anticorpos de surto de campo dos de vacinas.

A sequência de fotos mostra aves com sinais de doença de Newcastle velogênica, que incluem: prostração, sinais nervosos, diarreia e ovos despigmentados.



Caso superagudo seguido de morte.



Reflexos anormais.



Paralisia em pintinho.

Galinhas com
torcicolo.



Edema de olhos
e pescoço.

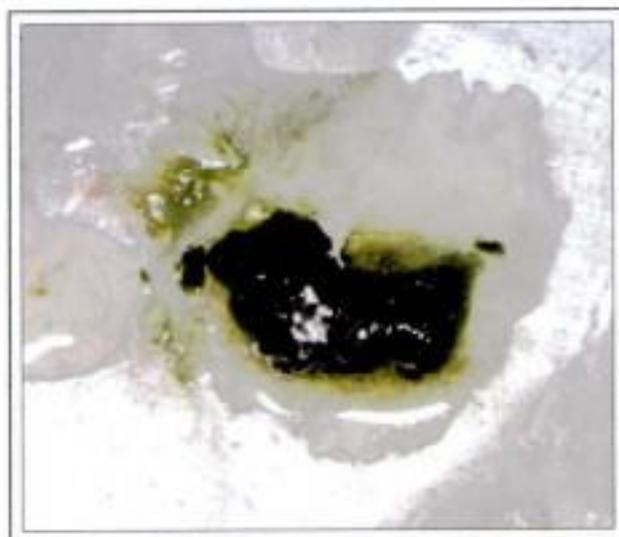


Edema ao redor
dos olhos.

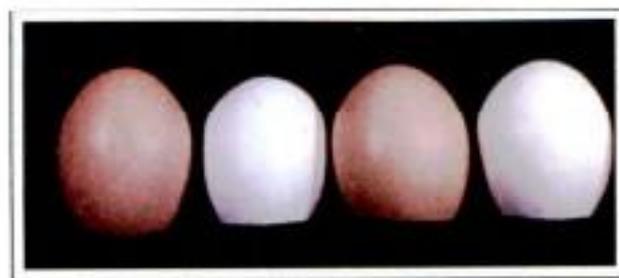




Fezes ressecadas e aderidas à cloaca.



Fezes diarreicas e esverdeadas.



Ovos deformados.

7.1.2 Diagnóstico clínico

Os sinais clínicos causados pelo vírus APMV-1 são extremamente variáveis. Podem estar ausentes ou se manifestar em forma de apatia intensa, prostração, sinais nervosos, entéricos e mortalidade de quase 100%. Os dois fatores que mais interferem na severidade e na manifestação dos sinais clínicos são o patótipo viral envolvido e o tipo de ave. Outros fatores, como *status* imune, mecanismo de transmissão da infecção, dose desafio, idade da ave, coinfeção, imunossupressão, ambiência e manejo, também interferem na maior ou menor severidade da doença.

- **Patótipos lentogênicos ou de origem entérica:** podem infectar aves sem induzir manifestação clínica, principalmente em adultas. Aves jovens podem apresentar alguns sinais respiratórios, como tosse e espirros, que tendem a desaparecer em menos de uma semana. Esses sinais podem ocorrer em caso de vacinação com cepas lentogênicas, principalmente com a La Sota. Porém, quando há complicação secundária, pode agravar o quadro e elevar a mortalidade.
- **Patótipos mesogênicos:** geralmente causam dificuldade respiratória, espirros e tosse. Sinais nervosos podem ou não estar presentes. Em aves adultas, pode haver queda da produção de ovos e produção de ovos com má calcificação (coloração clara da casca). A mortalidade geralmente é baixa, exceto em casos complicados por infecção secundária.
- **Patótipos velogênicos:** induzem a uma manifestação clínica bastante severa. Nos casos superagudos pode ocorrer morte abrupta sem manifestação clínica. Mais comumente se observam: prostração, penas arrepiadas, secreção e edema da conjuntiva, incoordenação motora, torcicolo, espasmos, paralisia das asas, edema de cabeça, tosse e espirros. Essas manifestações resultam principalmente das alterações do sistema respiratório e nervoso. No caso de patótipos velogênicos de cepas enterotrópicas, algumas aves desenvolvem diarreia aquosa branco-esverdeada.

Aves infectadas durante a postura manifestam queda severa de produção e os ovos apresentam má calcificação e despigmentação. Patótipos velogênicos, cepas neurotrópicas também produzem

elevada mortalidade e clinicamente se distinguem por estarem associados a sintomas nervosos de incoordenação, tremores e torcicolo. Perus e frangos são igualmente suscetíveis ao vírus da doença de Newcastle, porém os sinais clínicos nem sempre são tão severos em perus como em galinhas. Aves aquáticas tendem a não manifestar sintomas da doença quando infectadas pelo vírus da doença de Newcastle, embora possam sofrer a infecção e disseminar o vírus. Avestruzes podem morrer sem manifestar sinais da doença e em outras ocasiões apresentar sinais respiratórios e prostração sem mortalidade. Há descrição também de isolamento do vírus patogênico sem manifestação de sinais clínicos. Passarinhos dificilmente apresentam sinais clínicos da doença. Canários e mainás infectados experimentalmente não apresentaram sinais clínicos, exceto que foi observado mais de 10% de mortalidade. Pelicanos podem apresentar sinais clínicos nervosos. A doença de Newcastle sempre tende a ser mais severa em sinais clínicos nas aves comerciais que nas silvestres.

Com as cepas velogênicas, a morbidade é praticamente igual a 100% e a mortalidade pode ser elevada, da ordem de 50% ou mais, em aves adultas, e de até 100% em aves jovens. Uma vez a infecção estabelecida, ela se difunde rapidamente no lote e entre lotes próximos. O período de incubação é variável, podendo chegar a duas semanas, mas geralmente é de três a seis dias.

Clinicamente os surtos de doença de Newcastle se confundem com várias enfermidades. Um dos parâmetros que facilita o diagnóstico diferencial é a rápida difusão e a elevada mortalidade que geralmente ocorre nos casos de doença de Newcastle, principalmente em galinhas e perus. Deve-se proceder ao diagnóstico diferencial com influenza aviária, APMV-3, bronquite infecciosa, encefalomalácia, encefalomielite aviária, cólera aviária, laringotraqueite e doença de Marek com lesões nervosas.

7.13 Diagnóstico anatomopatológico

- **Lesões macroscópicas:** da mesma forma que a manifestação clínica da infecção pelo vírus APMV-1 é bastante variável, as alterações patológicas também o são. Dependem acima de tudo do tipo de ave e do patótipo do vírus envolvido. *Status* imune,

idade da ave, coinfeção, entre outros fatores, agravam ou amenizam as alterações patológicas. As amostras virais lentogênicas e entéricas tendem a não produzir alterações significativas. Ocasionalmente, podem induzir traquete discreta, observada no início da infecção. Algum agravamento pode ocorrer quando há infecção secundária.

As alterações mais significativas são observadas nas amostras velogênicas. Geralmente elas induzem a um grau variado de congestão e hemorragias nos órgãos viscerais. Hemorragias, edema e úlceras/necrose, quando detectadas nas tonsilas cecais e no tecido linfóide da parede intestinal (placas de Payer), são lesões bastante sugestivas da doença de Newcastle. Hemorragias no timo e na bolsa de Fabricius podem estar presentes, mas são mais difíceis de serem observadas em aves adultas. O baço pode estar aumentado, friável e mais escuro. Algumas aves podem manifestar congestão e hemorragias na traqueia, na conjuntiva ocular, edema pulmonar e necrose no pâncreas. Grau moderado de aerossaculite pode estar presente, mesmo com vírus lentogênico. Os ovários, além das hemorragias, podem apresentar flacidez, edema e degeneração. Além disso, galinhas e perus infectados durante a produção apresentam ovoperitonite e o ovário pode ter folículos degenerados ou hemorrágicos. A congestão generalizada e hemorragias dos órgãos viscerais, que é uma característica dos vírus de alta patogenicidade, além da doença de Newcastle, também podem ocorrer com o vírus da influenza aviária de alta patogenicidade. Apesar de os vírus velogênicos poderem comprometer o sistema nervoso central das aves, não há alterações macroscópicas facilmente identificáveis. Ademais, embora as cepas patogênicas possam induzir uma variedade de lesões graves, nenhuma delas é patognomônica. As aves que têm morte súbita podem apresentar apenas algumas ou nenhuma das alterações patológicas descritas. No caso de infecção experimental em galinha-d'angola, as únicas alterações significativas foram hemorragias no proventrículo e nas tonsilas cecais.

Amostras mesogênicas podem causar hemorragias no proventrículo, mas estas são menos frequentes no intestino. Pode ocorrer acúmulo de fluido nos seios nasais, narinas e traqueia.

- **Lesões microscópicas:** as alterações microscópicas são mais severas nas infecções por patótipos de alta virulência. No SNC se observa encefalomielite não purulenta, com degeneração de neurônios, infiltração linfocitária perivascular e hipertrofia das células endoteliais. Congestão, edema e hemorragias são observados em vários órgãos, bem como desenvolvimento de trombose hialina nos pequenos vasos, com necrose das células endoteliais. Observam-se ainda hemorragias e necrose no proventrículo e no baço, hipotrofia dos tecidos linfoides, degeneração medular na bolsa de Fabrícus, hiperplasia dos fagócitos mononucleares de vários órgãos, especialmente fígado, congestão da mucosa do trato respiratório superior, com edema e infiltração de linfócitos. As alterações do trato reprodutivo da fêmea incluem atresia folicular, com infiltração de células inflamatórias formando agregados linfocitários. Estes também podem aparecer no oviduto. Pequenas áreas de necrose podem aparecer no fígado e muitas vezes hemorragias na vesícula biliar e no coração.

No caso de infecção por vírus lentogênico, as alterações maiores e mais consistentes ocorrem na mucosa do trato aéreo superior e na traqueia, com congestão, edema e infiltrado com linfócitos e macrófagos; a traqueia pode perder a ciliação. Essas alterações tendem a desaparecer em uma semana, a menos que haja contaminação secundária.

7.1.4 Diagnóstico laboratorial direto

Nenhum dos sinais clínicos e nenhuma das alterações patológicas são elementos suficientes para realizar o diagnóstico. Estes não apresentam características patognomônicas. É fundamental que haja acompanhamento laboratorial. O histórico do lote, sinais clínicos, lesões e provas sorológicas são elementos que, juntos, formam a base para a suspeita, para o diagnóstico presuntivo. Para o diagnóstico definitivo há necessidade do isolamento e determinação do patótipo do vírus. Somente o isolamento não determina se o vírus é velogênico ou lentogênico, ou seja, se ele apresenta alta ou baixa patogenicidade. A caracterização da patogenicidade pode ser feita de várias formas; a mais aceita é a determinação do índice de patogenicidade intracerebral (IPIC), apresentado com mais detalhe na

página ao lado. Mais recentemente, provas de biologia molecular (RT-PCR) têm possibilitado a caracterização da patogenicidade, mesmo sem o isolamento do vírus. Certamente essa técnica tem facilitado muito o diagnóstico, principalmente quanto à rapidez.

Para isolamento pode-se usar uma variedade de cultivos celulares, porém em todos eles o rendimento é baixo. Por isso, a inoculação em ovos embrionados ainda é o método de eleição. Ele é sensível e amplamente utilizado. As amostras para tentativa de isolamento podem ser por suabes oronasais, de traqueia, cloaca, pulmão, rins, baço, cérebro, fígado, coração, proventrículo, intestino e fezes. No caso de proventrículo e fezes, deve-se acondicioná-los separadamente devido à alta contaminação. Com o restante dos órgãos pode-se fazer um *pool*. Quando o processamento ocorrer até 72 horas da coleta, manter sob refrigeração. Além desse tempo, o material deve ser congelado. De aves muito pequenas, quando não forem sacrificadas, amostra de fezes é adequado. Sempre que possível, os tecidos devem ser acondicionados em PBS pH 7,0 a 7,4, com solução de antibiótico (penicilina 2.000 UI/ml, estreptomicina 2 mg/ml, gentamicina 50 mg/ml e micostatina 1.000 UI/ml). Deve-se colocar 10% a 20% da solução PBS/antibiótico em relação aos tecidos. Os mesmos tecidos podem ser usados para provas moleculares. Caso se proceda somente a provas moleculares, as amostras podem ser congeladas imediatamente.

Ovos devem ser inoculados na cavidade alantoide de embriões do 9^o ao 11^o dia de desenvolvimento, com 0,1 a 0,3 ml do sobrenadante de um macerado dos órgãos. A preferência é para o uso de ovos SPF. Caso não haja esse tipo, embriões de ovos de lotes sem anticorpos podem ser usados. Ovos com anticorpos para APMV-1 ainda permitem o crescimento do vírus, mas a título bastante reduzido; portanto, devem ser evitados para diagnóstico. Todos os vírus (APMV 1 a 9) crescem bem quando inoculados em embriões pela cavidade alantoide, com exceção do APMV-5. Este tem que ser inoculado via saco da gema e com seis a oito dias de desenvolvimento embrionário e não nove a onze como os outros.

Usam-se quatro a cinco ovos por amostra; depois de inoculados, incuba-se a 37°C por cinco a sete dias. Dos embriões mortos e dos que sobrevivem até o final colhe-se o fluido alantoide/amniótico, refrigera-se a 4°C e posteriormente se testa para atividade de hemaglutinação na diluição de 1:10. Contaminação bacteriana pode

resultar em falso-positivo. Quando presente, eliminá-la por centrifugação, filtragem e adição de antibiótico. Amostra sem atividade hemaglutinante só é descartada após três passagens cegas. A confirmação da cepa viral 1 a 9 é feita por neutralização viral ou por inibição da hemaglutinação com soros específicos para cada um dos tipos virais. O APMV-5 não apresenta atividade hemaglutinante; para ser identificado, usa-se neutralização viral. No teste de HI pode ocorrer reação cruzada parcial entre APMV-1 e APMV-3. É necessário, portanto, trabalhar com reagentes (antissoros) de boa qualidade e sempre rodar os controles positivos e negativos para fazer a diferenciação. Pelo fato de o vírus da influenza aviária causar muito dos sinais clínicos e lesões semelhantes aos da doença de Newcastle, ser hemaglutinante e também ser isolado em ovos embrionados, é conveniente, quando possível, ter antissoros para diferenciá-lo do vírus da doença de Newcastle. O vírus da doença de Newcastle também pode ser identificado pela neutralização viral, por anticorpos policlonais/monoclonais e por imunofluorescência, bem como pela prova de RT-PCR.

Após o vírus isolado e identificado, é necessário que se determine a patogenicidade, pois ela é bastante variável entre as amostras de APMV (1 a 9). Existem três métodos estabelecidos para determinar a patogenicidade:

- a) índice de patogenicidade intracerebral (IPIC);
- b) tempo médio de morte embrionária (TMME);
- c) índice de patogenicidade intravenoso (IPIV).

O mais usado, e recomendado pela OMSA, é o IPIC. Segue descrição abreviada sobre cada um deles:

- **IPIC:** líquido alantoide que contém HA 1:16 e diluído 1:10, é inoculado intracerebralmente em 10 pintos (SPF) de 1 dia. Faz-se avaliação diária por oito dias com as seguintes pontuações: saudáveis = 0; doentes = 1; mortos = 2. O IPIC é a pontuação média recebida por ave nos oito dias. As amostras mais patogênicas se aproximam de 2,0 e as lentogênicas ou entérico assintomáticas, de 0,0 (zero). Todas as amostras que causam doença clínica em galinhas possuem IPIC igual ou maior que 0,7 (IPIC > 0,7). Amostras de baixa patogenicidade (lentogênicas) ou apatogênicas

possuem IPIIC inferior a 0,7, como é o caso das amostras vacinais e entéricas assintomáticas. Sempre que o IPIIC for = ou > 0,7 se considera doença de Newcastle.

- **TMME:** embriões de galinhas SPF de 9 a 10 dias de incubação são inoculados via cavidade alantoide com 0,1 ml de diluições 10^{-6} a 10^{-9} do líquido alantoide infectivo. Ovos são incubados a 37°C e observados por sete dias. A dose letal mínima é a diluição capaz de matar todos os embriões. O tempo é determinado em horas e classificado como: velogênico (embriões morrem em menos de 60 horas); mesogênico (embriões morrem entre 60 e 90 horas); e lentogênicos (embriões morrem após 90 horas).
- **IPIV:** dez frangos de corte de 6 semanas de idade são inoculados via endovenosa com 0,1 ml de líquido alantoide com HA 1:16 e diluído 1:10. As aves são avaliadas diariamente por dez dias e recebem a seguinte pontuação: saudável = 0; doente = 1; parálitica = 2; e morta = 3. Aves mortas recebem pontuação 3 todos os dias até completarem os dez dias. O índice IPIV é calculado pela média recebida por ave nos dez dias. Amostras lentogênicas e algumas mesogênicas apresentam IPIV 0,0 ou muito próximo. Todas as amostras patogênicas têm IPIV próximo de 3,0.

Existe uma correlação entre essas três técnicas, porém ela não é muito boa. As duas últimas TMME e IPIV estão praticamente em desuso. O IPIIC é a mais aceita e considerada a técnica oficial, pois possui uma boa correlação entre os dados gerados no laboratório e a patogenicidade no campo.

Além da determinação da patogenicidade pelas técnicas descritas, essas mesmas informações podem ser geradas por meios moleculares. Os vírus de alta patogenicidade apresentam uma sequência com múltiplos aminoácidos básicos no ponto de clivagem da proteína de fusão (F0), a qual permite formar F1 e F2. A clivagem é necessária para uma infecção generalizada e está altamente relacionada com a patogenicidade do vírus *in vivo*. Portanto, se o vírus suspeito apresentar uma sequência de aminoácidos que se assemelhe à de um APMV-1 altamente virulento, ele é virulento. Usualmente essa sequência tem sido $^{113}\text{RQK/RR}^*\text{F}^{117}$. Sempre há uma fenilalanina na posição 117, que é o terminal N da

proteína F1. Em contraste, para os vírus de baixa patogenicidade a sequência tem sido $^{113}\text{K/RQG/ER}^*\text{L}^{117}$. Esse critério, que é amplamente aceito, considera doença de Newcastle apenas para os vírus de alta patogenicidade, ou seja, os que causam mortalidade e elevadas perdas econômicas.

Análise filogenética também tem sido usada. Sequência de 250 bases tem gerado resultados significativos quando comparada com sequências mais longas. Com ela já foram agrupados os vírus da doença de Newcastle em oito grupos (I a VIII). É possível que no futuro essa técnica venha substituir as determinações *in vivo* (IPIC, IPIV e TMME), que são trabalhosas e demoradas e mais sujeitas aos erros e diferenças de interpretações.

Alguns pesquisadores têm desenvolvido anticorpos monoclonais para fazer a diferenciação da patogenicidade entre os vírus. Essa metodologia não tem se mostrado consistente e sua aceitação é limitada.

7.1.5 Diagnóstico laboratorial indireto

Os testes sorológicos constituem grande ferramenta para o diagnóstico indireto e principalmente para o monitoramento da doença de Newcastle. Considerando que não há como diferenciar anticorpos dos diferentes tipos de vírus, nem de vírus de campo do vírus vacinal, os resultados sorológicos devem ser interpretados. Por exemplo, a soroconversão demora até uma semana para ser detectada; portanto, ausência de anticorpos não necessariamente significa ausência da doença. Anticorpos de vírus vacinal induzem títulos – menores que anticorpos de surto de campo. Porém, no caso de amostra vacinal entérica (VG-GA), os títulos vacinais são tão altos quanto um título de desafio de campo. Os dois testes sorológicos mais frequentemente utilizados para monitoramento e auxílio no diagnóstico são ELISA e HI.

O ELISA é altamente sensível e específico, porém não faz distinção entre os APMV 1 a 9. Existe no mercado, e de diferentes marcas, ELISA para detectar anticorpos para APMV-1, porém não há como diferenciar os patótipos. No caso do HI, este permite diferenciar os APMV de 1 a 9, com exceção do 5, que não hemaglutina (neste caso usa-se vírus neutralização). Para essa diferenciação basta ter antissoro específico para cada um deles.

A padronização do HI ocorre cada vez que o teste é realizado. Existe certo grau de variabilidade entre laboratórios, porém, mesmo assim, o teste é bastante específico. O procedimento geral, mostrado a seguir, é o mais usado. Placas com 96 orifícios (tipo ELISA) são usadas. Adiciona-se 50 µl de PBS em cada poço. Na primeira cavidade de cada fila acrescenta-se o soro a ser testado e, depois de homogeneizado, transfere-se 50 µl para as cavidades seguintes de forma a diluir a amostra. Acrescenta-se 50 µl de fluido alantoide contendo o vírus inativado com 4 UHA em cada poço. Incuba-se por 30 minutos à temperatura ambiente (20°C a 23°C). Adicionam-se 50 µl de hemácias de galinhas a 1% em todas as cavidades, incuba-se por 40 minutos à temperatura ambiente e faz-se a leitura. O título é dado pela maior diluição onde houve inibição completa das 4 UHA do antígeno (visualização do botão ou escorrimento das hemácias). A presença de anticorpos no soro inibe a ligação entre o vírus e as hemácias (formação de rede), estas se precipitam e formam o botão. Títulos 0 até 1:4 são considerados negativos; 1:8 é considerado suspeito, e acima deste, positivo.

- **Determinação do HA.** Podem-se usar as mesmas placas de ELISA (96 poços fundo U). Despejar 50 µl de PBS nos orifícios, acrescentar 50 µl de líquido alantoide suspeito e fazer diluições até o final. Adicionar 50 µl de hemácias a 1% e incubar à temperatura ambiente por 40 minutos. O título é calculado considerando a última diluição que produziu aglutinação completa, sem botão (o vírus e as hemácias formam uma rede). Para calcular 4 UHA, divide-se o título por 4. Por exemplo, se o título foi 1:128, divide-se 128 por 4 = 32. Logo, 1 parte do antígeno original mais 31 de PBS.

8 Epidemiologia

O vírus lentogênico da doença de Newcastle causa principalmente enfermidade respiratória. Já amostras velogênicas causam enfermidade respiratória, entérica e sistêmica, até mesmo com lesões no sistema nervoso central. Grande número de aves é acometida pela doença de Newcastle, até espécies silvestres, que podem servir de

hospedeiros intermediários e atuar como fonte de disseminação para as aves comerciais. As aves aquáticas são as mais resistentes à infecção. Patos e gansos, mesmo inoculados com amostras altamente virulentas para galinhas, na grande maioria das vezes não desenvolvem a doença clínica apesar de ocorrer viremia.

O vírus da doença de Newcastle é encontrado nas secreções do trato respiratório e nas fezes das aves contaminadas. Portanto, a disseminação é dependente da difusão desses materiais, que pode ser pela cama, água, alimento, equipamentos, veículos e fômites de modo geral, além da movimentação de aves doentes e mortas. Possivelmente, os equipamentos, os veículos e o homem sejam os principais meios de disseminação da doença entre lotes doentes e sadios. Apesar de haver diferenças de patogenicidade entre as cepas ou patótipos do vírus da doença de Newcastle, não há diferença de difusibilidade entre eles, nem de resistência no meio ambiente.

8.1 Cadeia de transmissão

8.1.1 Fontes de infecção

A principal fonte de infecção são as aves doentes. A introdução em granjas sadias com frequência está ligada a contato com aves de criações informais, de fundo de quintal. Aves silvestres e migratórias também podem ser fonte de infecção. A eliminação do vírus é por curto período, geralmente uma semana – raramente chega a duas –, mas é tempo suficiente para haver a contaminação.

8.1.2 Reservatórios

As aves de vida livre, silvestres ou migratórias podem ser reservatórios do vírus da doença de Newcastle. Porém, existem dois outros grupos importantes, que são aves de fundo de quintal e de briga; estes com frequência têm se tornado fonte de infecção de aves comerciais.

8.1.3 Vias de eliminação

O vírus é facilmente eliminado pelas fezes e pelas secreções oronasais. A eliminação via ovo ocorre, mas em baixa percentagem. A maioria dos embriões contaminados morrem durante a incubação.

8.1.4 Vias de transmissão

Quando próximo, a transmissão ocorre por contato de ave doente com sadia. O vírus também pode se transmitir por aerossóis (poeiras, gotículas). Provavelmente a transmissão mais comum ocorre por pessoas, roupas, calçados, água, alimentos, ração, produtos de origem aviária, equipamentos e fômites em geral.

8.1.5 Portas de entrada

A mucosa do trato digestivo, principalmente oral, e o trato respiratório superior são as grandes portas de entrada do vírus da doença de Newcastle.

8.1.6 Suscetíveis

Galinhas e perus são mais suscetíveis que as aves de vida livre (silvestres e migratórias) e de fundo de quintal. Aves jovens tendem a ser mais suscetíveis que as adultas, embora a infecção e a doença possam ocorrer em qualquer idade.

8.2 Imunidade

Apesar de as diferentes cepas APMV-1 apresentarem quadro clínico extremamente variável (mortalidade de 0% a 100%), imunogenicamente não são diferentes, todos pertencem ao mesmo sorotipo. Portanto, todas as amostras vacinais e de campo são sorologicamente idênticas. Quanto à proteção, não está muito clara a importância da imunidade mediada por célula. Por outro lado, a imunidade humoral se relaciona muito bem com proteção. Altos níveis protegem contra a infecção. A presença de anticorpos protetivos no soro pode ser medida pelo teste de vírus neutralização (VN). Também há uma boa correlação com o teste de inibição de hemaglutinação (HI). Este último tem sido mais usado pela sua praticidade, principalmente para avaliar vacinas e vacinações. Vários estudos demonstraram que os principais anticorpos envolvidos na neutralização do vírus são os que se desenvolvem contra as glicoproteínas de superfície hemaglutinina (H), neuroaminidase (N) e contra a proteína de fusão (F). Essa é uma confirmação de que o teste de HI mede anticorpos que estão relacionados com proteção.

Aves que sobrevivem a um surto, uma semana depois, apresentam anticorpos circulantes detectáveis e atingem pico em três a quatro semanas. O declínio dos anticorpos circulantes é lento; após a infecção, títulos detectáveis pelo HI permanecem por vários meses. A glândula de Harder parece ser muito ativa na produção de IgA, que contribui para a imunidade local no trato aéreo superior. No caso de vacinação ocular, o vírus se replica nessa glândula de forma significativa, favorecendo a proteção. A multiplicação do vírus também ocorre tanto no trato intestinal como no respiratório.

A imunidade passiva é responsável por proteção e também interfere parcialmente na vacina. Pintos vacinados com altos títulos de anticorpos maternos desenvolvem proteção local, mas os títulos circulantes são mais baixos que em aves imunizadas sem anticorpos maternos. Os anticorpos maternos têm uma meia vida de quatro a cinco dias e, por mais alto que sejam, praticamente zeram nos pintinhos de 3 semanas de idade.

Para detecção de anticorpos circulantes podem ser usadas as seguintes provas: soroneutralização (SN), inibição da hemaglutinação (HI) e teste imunoenzimático (ELISA). A soroneutralização é o teste referência (GOLD), apresenta boa sensibilidade e alta especificidade. Porém, pela sua complexidade e custo, está sendo substituída. O teste de HI é altamente específico, tem boa sensibilidade, baixo custo, mas apresenta certo grau de variabilidade. O ELISA apresenta a melhor sensibilidade, é bastante específico e tem custo compatível. Está se tornando o teste de eleição para detecção e monitoramento de anticorpos circulantes.

8.3 Profilaxia

8.3.1 Tratamento

Não existe tratamento efetivo para a doença de Newcastle. O uso de antibiótico de largo espectro pode auxiliar na redução de contaminantes secundários. Porém, pela alta letalidade dessa doença, o tratamento não é justificado. Ainda, devido à legislação, aves comerciais positivas para doença de Newcastle devem ser eliminadas. Em caso de infecção por vírus lentogênico, tratamento com antibiótico de largo espectro pode amenizar o efeito dos contaminantes secundários.

8.3.2 Controle e prevenção

A prevenção da doença de Newcastle se inicia com a criação de aves em ambiente livre da doença, e tudo deve ser feito para mantê-las nessas condições. A biosseguridade é a chave para o controle e prevenção da doença de Newcastle. A criação de aves comerciais é incompatível com a presença da doença de Newcastle de alta patogenicidade. Esta compromete a produtividade e a comercialização. Portanto, em caso de positividade, o controle é feito através da erradicação. Granjas com aves positivas são imediatamente isoladas; o controle de pessoas, materiais e veículos, rigorosamente monitorados, e as aves, eliminadas. Limpeza e desinfecção devem ser rigorosas e um vazio de no mínimo três semanas deve ser observado. O contato com aves silvestres e de fundo de quintal deve ser evitado. Pelo fato de o vírus da doença de Newcastle ser envelopado, ele é relativamente sensível no ambiente. A sua resistência pode aumentar significativamente quando protegido por matéria orgânica e por baixa temperatura.

Além do isolamento e de boas regras de biosseguridade, a prevenção pode ser feita com o auxílio de vacinas, que são amplamente usadas e contribuem não só para prevenir surtos como para evitar a disseminação do vírus em caso de surtos. O tipo de vacina usado, a via e a frequência de aplicação dependem principalmente do tipo de ave e dos riscos de cada região. As vacinas vivas disponíveis no mercado brasileiro são amostras lentogênicas que podem produzir reação respiratória branda. As mais comumente usadas são as amostras Hitchner B1, La Sota, VG-GA, Ulster C2 e Clone 30. A inocuidade e a potência de todas as vacinas de Newcastle produzidas ou importadas no Brasil são monitoradas pelo governo federal através do laboratório Lanagro, de Campinas (SP). Todas podem ser aplicadas via água, aerossol, nasal ou ocular. A amostra La Sota, por causar uma pequena reação respiratória, não é recomendada como primeira vacinação. A reação respiratória à vacina em perus é menos severa que a observada em galinhas. Vacinas inativadas (emulsificadas em óleo) geralmente são usadas em matrizes antes do início da postura para induzir altos níveis de imunidade circulante. A imunidade materna pode interferir no vírus vacina, porém, mesmo que esta seja usada no primeiro dia, a

infecção se estabelece, mas com menor taxa de replicação. Outra interferência que poderá ocorrer é quando há vacinação com mais de um vírus respiratório, como pneumovírus e vírus da bronquite infecciosa. Para que não haja competição pelos mesmos sítios de replicação, sempre que possível deve-se dar intervalo de no mínimo sete a dez dias entre elas.

Em futuro próximo estarão disponíveis no mercado vacinas recombinantes para doença de Newcastle. Estas certamente eliminarão o problema de reações vacinais e de incompatibilidade por sítios de replicação.

A vacinação contra a doença de Newcastle é eficiente para prevenir a manifestação clínica da doença, mas não necessariamente previne a infecção pelo vírus de campo. Portanto, isolamento e biossegurança devem acompanhar os programas de vacinação. Os programas de vacina podem ser diferentes entre países e entre regiões dentro do mesmo país. Alguns dos principais fatores a serem observados no estabelecimento de um programa de vacina, tanto para comerciais (galinhas e perus) como para reprodutoras, são: nível de desafio, isolamento, tipo de ave, vacinas disponíveis, histórico da granja ou região, tamanho e importância do plantel e propósito das aves.

9 Legislação

9.1 Instrução Normativa SDA nº 32, de 13/5/2002

Estabelece as normas técnicas de vigilância para doença de Newcastle e influenza aviária e de controle e erradicação da doença de Newcastle. Referem-se:

1. Às exigências a serem cumpridas pelos estabelecimentos avícolas: registrados na SFA ou cadastrados no Serviço Oficial estadual de DSA.
2. À notificação quando do conhecimento ou suspeita de ocorrência de influenza aviária.
3. Às estratégias de atuação através de medidas de vigilância da influenza aviária pela notificação de suspeita de focos da influenza aviária; assistência aos focos; adoção de medidas de

biossegurança; realização de medidas de desinfecção; sacrifício sanitário; vazio sanitário; análise epidemiológica; vacinação de rotina ou emergencial dos plantéis; controle e fiscalização de animais suscetíveis; controle de trânsito; e outras medidas sanitárias.

4. À assistência aos focos: medidas sanitárias quando da suspeita e da confirmação; inclui medidas relativas à zona de proteção e zona de vigilância.
5. À colheita de amostras e o encaminhamento para realização de provas laboratoriais:
6. Ao diagnóstico laboratorial direto e indireto.
7. Ao encaminhamento dos resultados laboratoriais.
8. Ao estudo de atividade viral para doença de Newcastle e vigilância para doença de Newcastle e influenza aviária.
9. Às medidas de limpeza e desinfecção.
10. Ao trânsito do controle na incubação e das disposições gerais.

9.2 Instrução Normativa nº 17, de 7/4/2006

Aprova o plano nacional de prevenção da influenza aviária e de controle e prevenção da doença de Newcastle. Institui a regionalização segundo critérios geopolíticos dos programas e estabelece competências para os seguintes setores:

1. Secretaria de Defesa Agropecuária: Departamento de Saúde Animal (DSA); Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA); Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários (DFIP); Coordenação Geral de Apoio Laboratorial (CGAL); Coordenação do Sistema de Vigilância Agropecuária Internacional (Vigiagro).
2. Superintendências federais de agricultura (SFA).
3. Secretarias de Agricultura estaduais e seus órgãos de defesa sanitária animal.
4. Iniciativa privada.

9.3 Instrução Normativa MAPA nº 56, de 4/12/2007 (revoga a Instrução Normativa MAPA nº 4, de 30 de dezembro de 1998)

Estabelece os procedimentos para registro, fiscalização e controle de estabelecimentos avícolas de reprodução e comerciais, com exceção da criação de ratitas.

- 1. Os estabelecimentos contemplados são de reprodução e classificados segundo sua finalidade e espécies produção:** linha pura; de bisavoseiro; avoseiro; matrizeiro de aves comerciais de corte ou de postura comercial; matrizeiro de recria de matrizes de 1 dia produtoras de aves comerciais de corte e postura; de recria de pintinhas de 1 dia de postura comercial até 20 semanas de idade; incubatório de granjas de linha pura; incubatório de bisavoseiros; incubatório de avoseiros; incubatório de matrizeiros; produtor de aves e ovos livres de patógenos (SPF); e produtor de ovos controlados para produção de vacinas inativadas.
- 2. Para fins de registro e fiscalização, os estabelecimentos avícolas comerciais serão classificados quanto à finalidade em três categorias:** estabelecimento de aves comerciais de corte (galinhas e perus); estabelecimento de postura comercial (para produção de ovos de galinhas) para consumo; estabelecimento de criação de outras aves não contempladas nas definições anteriores, à exceção de ratitas (explorações de outras aves de produção, passeriformes ornamentais exóticas ou não, à exceção de ratitas e seus incubatórios, não contemplados no sistema avícola de produção de carne ou de ovos).
- 3. Onde registrar os estabelecimentos avícolas**
 - Estabelecimentos avícolas de reprodução: registrar no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).
 - Estabelecimentos avícolas comerciais de corte e postura comercial: registrar no órgão estadual de defesa sanitária animal do Estado onde se localiza.
- 4. Condições para o estabelecimento realizar seu registro**
 - Estar cadastrado na unidade de atenção veterinária local, do serviço estadual de defesa sanitária animal.

- Apresentar requerimento de registro, anexando todos os documentos exigidos.
- Memorial descritivo das medidas higiênico-sanitárias e de biossegurança que serão adotadas pelo estabelecimento avícola e dos processos tecnológicos, contendo descrição detalhada de manejo adotado; localização e isolamento das instalações; barreiras naturais; barreiras físicas; controle do acesso e fluxo de trânsito; cuidados com a ração e água; programa de saúde avícola; plano de contingência; plano de capacitação de pessoal; plano de gerenciamento ambiental; e plano descritivo de rastreabilidade de ovos incubados e da destinação de ovos não incubáveis (apenas para incubatórios e produtores de aves e ovos SPF e produtores de ovos controlados para produção de vacinas inativadas).
- Documento comprobatório da qualidade microbiológica, física e química da água de consumo, conforme padrões da vigilância sanitária ou atestado da utilização de fornecimento de água oriunda de serviços públicos de abastecimento de água.

5. Fiscalização dos estabelecimentos

- **Quanto à localização:** em área não sujeita a condições adversas que possam interferir na saúde e bem-estar das aves ou na qualidade do produto, devendo ser respeitadas as distâncias mínimas entre o estabelecimento avícola e outros locais de risco sanitário.
- **Quanto à natureza da construção:**
 - **Para estabelecimentos de reprodução:** estabelece as características e materiais de construção, proteções dos galpões, existência de cercas externas.
 - **Para estabelecimentos produtores de ovos e aves SPF:** estabelece, além da natureza dos materiais de construção, o sistema de filtração de ar.
 - **Para estabelecimentos produtores de ovos controlados para produção de vacinas inativadas:** estabelece também os critérios relativos ao sistema de entrada e fluxo de ar.
 - **Para estabelecimentos avícolas comerciais:** estabelece os critérios relativos aos materiais de construção, proteção ao

ambiente externo e aos galpões. Algumas exigências são diferenciadas para granjas de postura comercial e frangos de corte.

6. **Medidas sanitárias em caso de ocorrência de problemas sanitários:** referem-se às medidas emergenciais que objetivam prevenir a disseminação da doença.
7. **Monitoramentos sanitários em estabelecimentos de reprodução e comerciais:** para a doença de Newcastle, influenza aviária, salmonelas, micoplasmas, além do controle do uso de drogas veterinárias e contaminantes ambientais, de acordo com os respectivos procedimentos específicos. O monitoramento varia com a finalidade do estabelecimento.
8. **Responsabilidade**
 - **Pela fiscalização e supervisão do monitoramento sanitário:** é do médico-veterinário do serviço oficial responsável pela fiscalização.
 - **Pela execução dos controles higiênico-sanitários dos plantéis dos estabelecimentos avícolas de reprodução e comerciais:** é do técnico responsável.
 - **Pela execução dos exames laboratoriais:** em laboratórios pertencentes à Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária.

9. Referências bibliográficas

- ABOLNIK, C.; HORNER, R. F.; BISSCHOP, S. P. R.; PARKER, M. E.; ROMITO, M.; VILJOEN, G. J. "A phylogenetic study of South African Newcastle disease virus strains isolated between 1990 and 2002 suggests epidemiological origins in the Far East." *Arch. Virol.*, v. 149, nº 3, 2004, pp. 603-619.
- ALEXANDER, D. J.; SENE D. A. "Newcastle Disease and Other Avian Paramixovirus", in: *A laboratory manual for the isolation, identification and characterization of avian pathogen*. 5ª ed. Atenas: Louise Dufour-Zavalla, pp. 135-141, 2008.
- ALEXANDER, D. J.; SENE D. A. "Newcastle Disease, Other Avian Paramixovirus and Pneumovirus Infection", in: *Disease of poultry*. 12ª ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2008, pp. 75-100.
- AMERICAN ASSOCIATION OF AVIAN PATHOLOGIST. *Avian disease manual*. 6ª ed. Atenas/Georgia: Charton B. R., 2006, pp. 55-59.
- BACK, A. "Manual de doenças das aves", in: *Doença de Newcastle*. 1ª ed. Cascavel: Coluna do Saber, 2006, pp. 95-98.
- BARBEZANGE C.; JESTIN V. "Molecular characterization of three avian paramyxovirus type 1 isolated from pigeons in France". *Virus Genes*, v. 26, nº 2, 2003, pp. 175-83.
- BELLUCI, M.S.P. et al. "Avaliação sorológica do vírus da doença de Newcastle em aves silvestres." *Ver. Brás. C. Vet.*, v. 6, nº 2, 1999, pp. 66-68.
- BISWAS, P. K.; BISWAS, D.; AHMED, S.; RAHMAN, A.; DEBNATH, N. C. "A longitudinal study of the incidence of major endemic and epidemic diseases affecting semi-scavenging chickens reared under the Participatory Livestock Development Project areas in Bangladesh". *Avian Pathol.*, v. 34, nº 4, 2005, pp. 303-312.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 56, de 4 de dezembro de 2007. Estabelece procedimentos para registros, fiscalização e controle de estabelecimentos avícolas de reprodução e comerciais.
- BRASIL – MAPA. *Programa nacional de sanidade avícola*. Portaria nº 183, de 8 de novembro de 1994 – Secretaria de Defesa Agropecuária.
- . *Plano de contingência para influenza aviária e doença de newcastle*, junho de 2006.
- CATTOLI, G.; MANVELL, R.; TISATO, E. O.; BANKS, J.; CAPUA, I. "Characterization of Newcastle disease viruses isolated in Italy in 2000". *Avian Pathol.*, v. 30, nº 5, 2001, pp. 465-469.
- CUNHA, R. G.; SILVA, R. A. "Isolamento e identificação do vírus da Doença de Newcastle no Brasil." *Soc. Bras. Med. Vet.*, v. 23, 1955, pp. 17-33.
- CZEGLEDI, A.; HERCZEG, J.; HADJIEV, G.; DOUMANOVA, L.; WEHMANN, E.; LOMNICZI, B. "The occurrence of five major Newcastle disease virus genotypes (II, IV, V, VI and VIIIb) in Bulgaria between 1959 and 1996". *Epidemiology and Infection*, v. 129, nº 3, 2002, pp. 679-688.

- FARLEY, J. M.; ROMERO, C. H.; SPALDING, M. G.; AVERY, M. L.; FORRESTER, D. J. "Newcastle disease virus in double-crested cormorants in Alabama, Florida, and Mississippi." *J. Wildlife Dis.*, v. 37, nº 4, 2001, pp. 808-812.
- GLASER, L. C.; BARKER, I. K.; WESELOH, D. V. C.; LUDWIG, J.; WINDINGSTAD, R. M.; KEY, D. W.; BOLLINGER, T. K. "The 1992 epizootic of Newcastle disease in double-crested cormorants in North America". *J. Wildlife Dis.*, v. 35, nº 2, 1999, pp. 319-330.
- GOULD, A. R.; KATTENBELT, J. A.; SELLECK, P.; HANSSON, E.; DELLA-PORTA, A.; WESTBURY, H. A. "Virulent Newcastle disease in Australia: Molecular epidemiological analysis of viruses isolated prior to and during the outbreaks of 1998-2000". *Virus Res.*, v. 77, nº 1, 2001, pp. 51-60.
- HOEFLE, U.; GORTAZAR, C.; ANGULO, E.; KALETA, E. E.; VILLAFUERTE, R. V. "Investigations into the seroprevalence of antibodies against avian paramyxovirus serotype 1, 2 and 3 in the sera of free-living red-legged partridges (*Alectoris rufa*) in southern Spain". *Zeitschrift fuer Jagdwissenschaft*, v. 47, nº 2, 2001, pp. 145-151.
- ITO, N.M.K. et al. "Newcastle disease virus: some biological characteristics of twelve samples isolated in Brazil". *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. USP*, v. 23, nº 1, 1986, pp. 47-53.
- JORGENSEN, P. H.; HANDBERG, K. J.; AHRENS, P.; HANSEN, H. C.; MANVELL, R. J.; ALEXANDER, D. J. "An outbreak of Newcastle disease in free-living pheasants (*Phasianus colchicus*)". *J. Vet. Med.*, v. 46, nº 6, 1999, pp. 381-387.
- KWON, H.J.; CHO, S.H.; AHN, Y.J.; SEO, S.H.; CHOI, K.S.; KIM, S. J. "Molecular epidemiology of Newcastle disease in Republic of Korea". *Vet. Microbiol.*, v. 95, nº 1-2, 2003, pp. 39-48.
- LEY, E. C.; MORISHITA, T. Y.; HARR, B. S.; MOHAN, R.; BRISKER, T. "Serologic survey of slaughter-age ostriches (*Struthio camelus*) for antibodies to selected avian pathogens". *Avian Dis.*, v. 44, nº 4, 2000, pp. 989-992.
- LIANG, R.; CAO, D.J.; LI, J.Q.; CHEN, J.; GUO, X.; ZHUANG, F.F.; DUAN, M. X. "Newcastle disease outbreaks in western China were caused by the genotypes VIIa and VIII". *Vet. Microbiol.*, v. 87, nº 3, 2002, pp. 193-203.
- LIU, X. F.; WAN, H. Q.; NI, X.X.; WU, Y.T.; LIU, W. B. "Pathotypical and genotypical characterization of strains of Newcastle disease virus isolated from outbreaks in chicken and goose flocks in some regions of China during 1983-2001". *Arch. Virol.*, v. 148, nº 7, 2003, pp. 1387-403.
- MAHO, A.; GONDJE, N.; NDELEDJE; MOPATE, L. Y.; KANA, S. "La maladie de Newcastle au sud du Tchad: periodes de pic epidemique et impact de la vaccinatiin". *Rev. Sc. Tech. OIE*, v. 23, nº 3, 2004, pp. 777-782.
- O'DONOGHUE, K.; LOMNICZI, B.; MCFERRAN, B.; CONNOR, T. J.; SEAL, B.; KING, D.; BANKS, J.; MANVELL, R.; WHITE, P. S.; RICHMOND, K.; JACKSON, P.; HUGH-JONES, M. "Retrospective characterization of Newcastle Disease Virus Antrim '73 in relation to other epidemics, past and present". *Epidemiol. Infection*, v. 132, nº 2, 2004, pp. 357-368.

- OLIVEIRA JR, J. G.; SCHIAVO, P. A.; DORETTO JR, L.; ORSI, M. A.; MARZUR, C.; ANDRADE, C. M. "Isolamento e caracterização biológica da amostra JAP99 do vírus da doença de Newcastle isolada de patos domésticos (*Neta sp*) no Rio de Janeiro". *Cienc. Rural*, v. 35, nº 4, 2005.
- PAULILLO, A. C.; DORETTO Jr., L. "Doença de Newcastle", in: BERCHIERI Jr., A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTEI, L.; ZUANAZE, M. A. F. 2ª ed. *Doenças das aves*. Campinas: Facta, 2009, pp. 587-608.
- PEDERSEN, J. C.; SENNE, D. A.; WOOLCOCK, P. R.; KINDE, H.; KING, D. J.; WISE, M. G.; PANIGRAHY, B.; SEAL, B. S. "Phylogenetic relationships among virulent Newcastle disease virus isolates from the 2002-2003 outbreaks in California and other recent outbreaks in North America". *J Clin Microbiol.*, v. 42, nº 5, 2004, pp. 2329-34.
- PETERSON, M. J.; AGUIRRE, R.; FERRO, P. J.; JONES, D. A.; LAWYER, T. A.; PETERSON, M. N.; SILVY, N. J. "Infectious disease survey of Rio Grande wild turkeys in the Edwards Plateau of Texas". *J. Wildlife Dis.*, v. 38, nº 4, 2002, pp. 826-833.
- PETERSON, M. J.; FERRO, P. J.; PETERSON, M. N.; SULLIVAN, R. M.; TOOLE, B. E.; SILVY, N. J. "Infectious disease survey of lesser prairie chickens in North Texas". *J. Wildlife Dis.*, v. 38, nº 4, 2002, pp. 834-839.
- REYNOLDS, D., L.; MARAQA, A. D. "Protective Immunity Against Newcastle Disease: The role of Antibodies Specific to Newcastle Disease Virus Polypeptides". *Avian Diseases*, v. 44, 2000, pp. 138-144.
- . "Protective Immunity Against Newcastle Disease: The role of Cell-Mediate Immunity". *Avian Diseases*, v. 44, 2000, pp. 145-154.
- SAIDU, L.; TEKDEK, L. B.; ABDU, P. A. "Prevalence of Newcastle disease antibodies in domestic and semi-domestic birds in Zaria, Nigeria". *Veterinarski Arhiv*, v. 74, nº 4, 2004, pp. 309-317.
- SAMINA, I.; KHNICH, B.; GUTTER, A.; MICHAEL, A.; PELEG, B. "A day-old vaccination with live-in-oil vaccines: Newcastle disease (ND) and infectious bursal disease (IBD) in chicks and ND in turkeys poults". *Avian Pathology*, v. 28, 1999, pp. 73-78.
- SCHETTLER, E.; LANGGEMACH, T.; SOEMMER, P.; STREICH, J.; FROELICH, K. "Seroepizootiology of selected infectious disease agents in free-living birds of prey in Germany". *J. Wildlife Dis.*, v. 37, nº 1, 2001, pp. 145-152.
- SCHNEBEL, B.; DIERSCHKE, V.; RAUTENSCHLEIN, S.; RYLL, M. "No detection of avian influenza A viruses of the subtypes H5 and H7 and isolation of lentogenic avian paramyxovirus serotype 1 in passerine birds during stopover in the year 2001 on the island Helgoland (North Sea)". *Deutsche-Tieraerztliche-Wochenschrift*, v. 112, nº 12, 2005, pp. 456-460.
- SHENGQING, Y.; SHINYA, K.; OTSUKI, K.; ITO, H.; ITO, T. "Isolation of myxoviruses from migratory waterfowls in San-in district, western Japan in winters of 1997-2000". *J. Vet. Méd. Sc.*, v. 64, nº 11, 2002, pp. 1.049-1.052.

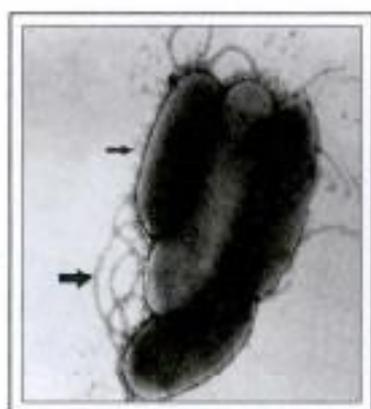
- TERREGINO, C.; CATTOLI, G.; GROSSELE, B.; BERTOLI, E.; TISATO, E.; CAPUA, I. "Characterization of Newcastle disease virus isolates obtained from Eurasian collared doves (*Streptopelia decaocto*) in Italy". *Avian Pathol.*, v. 32, nº 1, 2003, pp. 63-68.
- TSAL, H. J.; CHANG, K. H.; TSENG, C. H.; FROST, K. M.; MANVELL, R. J.; ALEXANDER D. J. "Antigenic and genotypical characterization of Newcastle disease viruses isolated in Taiwan between 1969 and 1996". *Vet. Microbiol.*, v. 104, nº 1-2, 2004, pp. 19-30.
- UJVARI, D.; WEHMANN, E.; KALETA, E. E.; WERNER, O.; SAVIC, V.; NAGY, E.; CZIFRA, G.; LOMNICZI, B. "Phylogenetic analysis reveals extensive evolution of avian paramyxovirus type 1 strains of pigeons (*Columba livia*) and suggests multiple species transmission". *Virus Res.*, v. 96, nº 1-2, 2003, pp. 63-73.
- WAN, H.; CHEN, L.; WU, L.; LIU, X. "Newcastle disease in geese: natural occurrence and experimental infection". *Avian Pathol.*, v. 33, nº 2, 2004, pp. 216-221.
- WEHMANN, E.; CZEGLEDI, A.; WERNER, O.; KALETA, E. E.; LOMNICZI, B. "Occurrence of genotypes IV, V, VI and VII in Newcastle disease outbreaks in Germany between 1939 and 1995". *Avian Pathol.*, v. 32, nº 2, 2003, pp. 157-163.
- WEHMANN, E.; UJVARI, D.; MAZIJA, H.; VELHNER, M.; CIGLAR-GROZDANIC, I.; SAVIC, V.; JERMOLENKO, G.; CAC, Z.; PRUKNER-RADOVIC, E.; LOMNICZI, B. "Genetic analysis of Newcastle disease virus strains isolated in Bosnia-Herzegovina, Croatia, Slovenia and Yugoslavia, reveals the presence of only a single genotype. V between 1979 and 2002". *Vet. Microbiol.*, v. 94, nº 4, 2003, pp. 269-281.
- YANG, C. Y.; SHIEH, H. K.; LIN, Y. L.; CHANG, P. C. "Newcastle disease virus isolated from recent outbreaks in Taiwan phylogenetically related to viruses (genotype VII) from recent outbreaks in western Europe." *Avian Dis.*, v. 43, nº 1, 1999, pp. 125-130.
- YU, L.; WANG, Z.; JIANG, Y.; CHANG, L.; KWANG, J. "Characterization of newly emerging Newcastle disease virus isolates from the People's Republic of China and Taiwan". *J. Clinical Microbiol.*, v. 39, nº 10, 2001, pp. 3.512-3.519.

Salmonelose aviária

1 Introdução e histórico

Bactérias do gênero *Salmonella* estão amplamente difundidas na natureza e infectam praticamente todos os animais, até mesmo as aves e o homem. Nas aves causam infecção ou doença que pode ser aguda ou crônica. As consequências decorrentes da doença podem ser econômicas, devido à mortalidade e redução de desempenho, e de saúde pública, pois algumas delas podem ser transmitidas ao homem pela carne, ovos e derivados. O termo "salmonelose" tem sido usado para indicar a infecção causada por qualquer bactéria do gênero *Salmonella* da família *Enterobacteriaceae*. A denominação desse gênero foi dada em homenagem a Daniel E. Salmon, veterinário bacteriologista americano, no início do século XX. A *Salmonella* spp. é um bacilo gram-negativo, não formador de esporo, que mede 0,7 – 1,5 x 2,0 – 5,0 micra. Está subdividida em duas espécies, seis subespécies e mais de 2.500 sorotipos. Essa grande variabilidade antigênica torna difícil a classificação e tem gerado muita controvérsia.

A última proposta, e a mais aceita, relativa à taxonomia e nomenclatura, propõe dividir o gênero *Salmonella* nas espécies *enterica* e *bongori*. Praticamente todas as salmonelas que infectam aves pertencem à espécie *enterica*, subespécie *enterica*, sendo a mais numerosa em sorotipos (mais de 1.500). A espécie *enterica* está dividida em seis subespécies bioquimicamente distintas, que são ainda diferenciadas em centenas de sorotipos (sorovares) identificados por nomes ou números, como mostra a tabela abaixo. Essa nova nomenclatura foi escolhida como uma tentativa de melhor classificar as salmonelas, mas ainda assim ela é bastante complexa.



Salmonella Typhimurium – microscopia eletrônica (ampliada 70.000 vezes).

Seta menor indica fimbrias.
Seta maior indica flagelo.

TABELA 1

Classificação atual do gênero *Salmonella* conforme espécie, subespécie e sorotipos

Gênero e espécie	Subespécie	Quantidade de sorotipos*	Animais de sangue		Denominação do sorotipo
			Frio	Quente	
<i>S. enterica</i>	I (<i>enterica</i>)	1.504	-	+	Nomes
<i>S. enterica</i>	II (<i>salamac</i>)	502	+	-	Números
<i>S. enterica</i>	IIIa (<i>arizonae</i>)	95	+	+	Números
<i>S. enterica</i>	IIIb (<i>diazarizonae</i>)	333	+	+	Números
<i>S. enterica</i>	IV (<i>houtenae</i>)	72	+	-	Números
<i>S. enterica</i>	VI (<i>indica</i>)	13	+	-	Números
<i>S. bongori</i>		22			Números

* Número estabelecido até 2004

+: Isolada na grande maioria das vezes

-: Isolamento pouco frequente

Pelo fato de a identificação completa ser muito longa, adotou-se escrever o gênero e o sorotipo, omitindo-se a espécie e subespécie, por exemplo: *Salmonella enterica*, subespécie *enterica*, sorotipo Typhimurium (escreve-se *Salmonella* Typhimurium). Como Typhimurium neste caso é o sorotipo, não deve ser escrito em itálico e deve iniciar com letra maiúscula. Essa nomenclatura tem sido utilizada pela Organização Mundial da Saúde Animal (OMSA), pelo Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos e pela Sociedade Americana de Microbiologia (ASM). O centro de referência e pesquisa para a nomenclatura do gênero *Salmonella* é o Instituto Pasteur, em Paris, que periodicamente publica uma atualização dos novos sorotipos.

A infecção das aves (principalmente galinhas e perus) por bactérias do gênero *Salmonella* pode induzir a manifestações clínicas de formas distintas. Em decorrência desse fato, não existe uma classificação universalmente aceita da doença. A forma mais simples e mais usada é agrupá-las conforme o quadro clínico apresentado, que são dois: tifo e paratifo aviário. As salmonelas que causam o tifo aviário são as *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* (causam a pulorose e o tifo respectivamente). Caracterizam-se por causar doença septicêmica com alta mortalidade, transmitem-se por via vertical, estão muito adaptadas às galinhas e aos perus, não infectam outras espécies e não possuem flagelos, sendo, portanto, bioquimicamente imóveis. O paratifo aviário é causado por todos os demais sorotipos. Estes dificilmente causam septicemia em aves, estão amplamente difundidos na natureza e em outras espécies animais, são flagelados (móveis), raramente transmitem-se por via vertical, causam frequentemente infecção, porém a doença clínica é rara. Entre as salmonelas paratíficas, destacam-se a *Salmonella* Enteritidis e a *Salmonella* Typhimurium, pela sua importância em saúde pública. Estas têm sido as mais frequentemente associadas com toxi-infecção alimentar no homem, sendo carne, ovos e derivados de aves apontados como uma das principais vias de transmissão. Há uma tentativa de criar um grupo adicional em que essas duas salmonelas seriam incluídas, porém não é de aceitação geral.

Na classificação acima fica excluída a *Salmonella* Arizonae. A sua importância está mais ligada à criação de perus que à de galinhas. É móvel (possui flagelo) e transmite-se por via vertical em altas

taxas. Causa um quadro de septicemia e enterite com alta mortalidade. No Brasil, por três décadas não tem sido encontrada. Também nos Estados Unidos e Europa essa salmonela está sob controle.

Historicamente, a salmonelose em aves tem sido descrita há mais de cem anos. O tifo aviário foi o primeiro a ser reconhecido, em 1888. Inicialmente, o agente foi denominado *Bacillus gallinarum*, depois *Bacillus sanguinarium* e finalmente *Salmonella gallinarum* (*Salmonella Gallinarum*). O termo "tifo aviário" começou a ser usado a partir de 1902. Em 1895 um surto de enterite em pombos foi descrito como tendo sido causado por uma salmonela móvel, paratífica (provavelmente *S. Typhimurium*). No caso da pulorose, o agente foi descrito em 1899. A doença inicialmente foi chamada "septicemia fatal"; depois, "diarreia bacilar branca", para diferenciar de outras enfermidades em galinhas; e finalmente "pulorose". No início do século XX, tanto a salmonelose tífica como a paratífica foram reconhecidas em várias partes do mundo. De maneira genérica, podemos dizer que até os anos 1970 a preocupação principal era controlar as salmonelas tíficas, pelas grandes perdas econômicas que causavam à indústria avícola. O controle se tornou possível pelos avanços dos conhecimentos epidemiológicos e do diagnóstico das salmonelas. A partir dos anos 1980 ficou evidente que aves e produtos se tornaram grande fonte de salmonela ao homem, envolvendo inúmeras salmonelas paratíficas, com destaque para a *Salmonella* Enteritidis e a *Salmonella* Typhimurium. Essa preocupação persiste até hoje.

2 Isolamento e identificação de salmonelas

Apesar dos grandes avanços das técnicas laboratoriais, até mesmo da biologia molecular, os métodos convencionais de isolamento e identificação de salmonelas são ainda amplamente usados. O grande benefício está na possibilidade de se diferenciar sorologicamente (sorotipificação) os diferentes isolados. Isso permite rastrear a salmonela na cadeia de produção, fator fundamental para o controle. O isolamento das salmonelas pode ser realizado a partir de fezes, órgãos internos (fígado, baço, coração, ovário, intestino e principalmente tonsilas cecais), suabes de cloaca, suabes de arrasto, propés,

ovos, saco da gema, papo, mecônio, penugem e embriões, tanto de aves doentes como de portadoras sãs. Também podem ser isoladas da cama, suabes de instalações, equipamentos, alimento, matérias-primas, animais domésticos e silvestres. Dos ovos pode-se isolar da casca e do conteúdo interno, principalmente da gema.

O procedimento convencional de isolamento de salmonelas envolve duas a três etapas de cultivo, após as quais se pode obter a confirmação bioquímica e sorológica. A primeira é o pré-enriquecimento, recomendado para recuperação ou isolamento de salmonelas quando a amostra tem baixo número de células bacterianas ou quando estas estão estressadas ou parcialmente danificadas por desinfetantes, calor ou desidratação; os caldos BHI (*brain heart infusion*), água peptonada e triptose (TSB) são os mais utilizados. Geralmente utiliza-se a proporção 1:10 de amostra para meio. A segunda etapa é o cultivo em caldo seletivo, que é feito após o pré-enriquecimento ou diretamente quando se suspeita que a amostra contenha um número considerável de bactérias. O cultivo em meios seletivos favorece o crescimento das salmonelas, inibindo bactérias competidoras contaminantes; Caldo tetracionato, Rappaport-Vassiliadis, Hajna e Selenito são os mais usados. Pela toxicidade ao homem, o Selenito está em desuso. Após o pré-enriquecimento e cultivo em caldo seletivo, passa-se para a terceira etapa. O material é semeado em meio sólido preparado em placas de Petri com ágar. Esses meios inibem o crescimento de outras bactérias, favorecendo o das salmonelas. Nos meios sólidos pode-se adicionar a novobiocina, um antibiótico seletivo que inibe os contaminantes, e não as salmonelas. Os meios sólidos mais comumente usados para isolamento de salmonela são MacConkey, verde-brilhante, ágar Rambach, Hektoen, Miler-Malison, xylose-lisina deoxycholate (XLD) e XLT4. Estes permitem o fácil reconhecimento das colônias de salmonelas entre outras bactérias que eventualmente venham a crescer.

Para pré-enriquecimento, o caldo deve ser incubado a 37°C por 18-24 horas. Para enriquecimento incubado a 37°C ou a 42°-43°C, por 18-24 horas. Em meios sólidos, incubado a 37°C por 18-24 horas. A frequência de isolamento de salmonela, em muitos casos, pode ser aumentada quando, após a incubação inicial a 41°-42°C por 24 horas, o caldo de enriquecimento é mantido por mais três a cinco dias à temperatura ambiente (23°C) e feita nova tentativa de isolamento.

As colônias suspeitas de salmonela que crescem em meio sólido (2-4 mm com bordas arredondadas) devem ser selecionadas e submetidas a provas bioquímicas, conforme mostrado nas tabelas 2 e 3.

TABELA 2

Principais reações bioquímicas que diferenciam os grupos mais importantes de salmonelas que infectam as aves

Prova bioquímica	<i>Salmonella</i> spp. da subespécie I	<i>Salmonella</i> Pullorum	<i>Salmonella</i> Gallinarum	<i>Salmonella</i> spp. da subespécie IIIa e IIIb
Glicose	Ácido/gás +	Ácido/gás v	Ácido/gás -	Ácido/gás +
Sacarose	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	v
Manitol	+	+	+	+
Maltose	+	- (+ tardio)	+	+
Dulcitol	+	-	+ (ocasional -)	-
VM	+	+	+	+
VP	-	-	-	-
Citrato Simmons	+	-	-	+
Fenilalanina descarboxilase	-	-	-	-
Lisina descarboxilase	+	+	+	+
Arginina desidrolase	v	v	-	v
Ornitina descarboxilase	+	+	-	+
Malonato	-	-	-	+ -

Salmonella spp. da subespécie I: *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*, entre outras.

Salmonella spp. da subespécie IIIa e IIIb: antigo grupo Arizona.

Ácido: amarelo.

+ : Positivo.

- : Negativo.

v : Variável.

TABELA 3

Grupo simplificado de meios que pode ser usado como triagem para identificar o gênero *Salmonella* em vez da série bioquímica, mais completa, apresentada anteriormente

Prova bioquímica		<i>Salmonella</i> Pullorum	<i>Salmonella</i> Gallinarum	<i>Salmonella</i> spp. da subespécie I	<i>Salmonella</i> spp. da subespécie IIIa e IIIb
TSI	Base	Ácido/gás +ou -	Ácido/gás -	Ácido/gás+	Ácido/gás +ou -
	Bisel	Alcalino (vermelho)	Alcalino (vermelho)	Alcalino (vermelho)	Alcalino (vermelho) ou Ácido (amarelo)
	H ₂ S	+/-	+	+	+
LIA	Base	Alcalina (púrpura)	Alcalina (púrpura)	Alcalina (púrpura)	Alcalina (púrpura)
	H ₂ S	+/-	+	+	+
SIM	Indol	-	-	-	-
	Motilidade	-	-	+	+
Urease		-	-	-	-

Salmonella spp. da subespécie I (*S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*, entre outras).

Salmonella spp. da subespécie IIIa e IIIb (antigo grupo Arizona).

Ácido: amarelo.

+ : Positivo.

- : Negativo.

Após a confirmação bioquímica, faz-se a confirmação sorológica pelo uso de soros contra antígenos somáticos (O) polivalentes. Todos os sorotipos (mais de 2.500) de salmonela possuem flagelo; portanto, são móveis. A única exceção é a *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum*, que não possuem flagelo e são imóveis. Ocasionalmente surgem mutantes imóveis dentro da população móvel; porém, não há evidências de que se fixem como população estável. É importante reconhecer que a *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum* podem não competir bem quando submetidas ao pré-enriquecimento. Em caso de suspeita de tifo ou pulrose, pode-se tentar isolamento semeando diretamente na placa de meio sólido, ou semeando em meio de enriquecimento, e depois em meio sólido e finalmente para a série bioquímica. Evitar meios que a identificação se

baseie na produção de H_2S , pois a *S. Pullorum* produz muito pouco desse ácido.

Embora a temperatura ideal de crescimento seja 37°C, a salmonela cresce de 5°C a 45°C e sobrevive em pH 4 a 9. Em condições extremas de pH, pode não haver expressão completa de flagelo e fimbrias.

Após a realização das provas bioquímicas e/ou sorológicas preliminares, as colônias compatíveis com a *Salmonella* spp. podem ser sorotipificadas. Para a sorotipificação utiliza-se uma série de antissoros que identificam antígenos flagelares "H" e antígenos somáticos "O". O método usado é o esquema de Kauffman-White, em que os sorogrupos da *Salmonella* spp. são identificados por letras e por números. Embora existam mais de 2.500 sorotipos de salmonelas já identificados, cerca de 10%, ou pouco mais de duzentos deles, foram isolados de aves, e geralmente cerca de dez sorotipos representam mais de 80% dos isolamentos de galinhas e perus. As salmonelas imóveis, sorotipos Pullorum e Gallinarum, podem ser diferenciadas de todas as outras *Salmonella enterica* pela ausência do antígeno flagelar "H" detectado com antissoro poli H ou pelo resultado negativo no teste de motilidade. Porém, sorologicamente, não há como diferenciá-las entre si. Nesse caso a diferenciação é por provas bioquímicas, como mostrado na tabela 2.

Os sorogrupos somáticos B e D são considerados os mais importantes quando consideramos as salmonelas nas aves e também sua relação com saúde pública. No sorogrupo D estão incluídos os serovares Pullorum, Gallinarum e Enteritidis; no sorogrupo B, as serovares Typhimurium, Heidelberg e Agona, além de muitos outros. Considerando pelo prisma da saúde pública, todos os sorotipos são tidos potencialmente como patogênicos para o homem. A sorotipificação de toda a *Salmonella* spp. da subespécie I (*enterica*) é importante para identificação das amostras mais patogênicas e para avaliações epidemiológicas.

TABELA 4

Composição dos antígenos somáticos e flagelares das quatro principais salmonelas de interesse da avicultura que fazem parte do Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA)

Salmonella	Antígenos somáticos			Antígenos flagelares						
	Poli O	Grupo B (1, 4 e 5)	Grupo D (1, 9 e 12)	g, m	g, p	m	p	q	i	2
S. Gallinarum	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
S. Pullorum	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
S. Enteritidis	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
S. Typhimurium	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

+ : Positivo.

- : Negativo.

Para estudos de etiopatogenia e/ou epidemiológicos das salmonelas, podem-se efetuar várias análises complementares além da sorotipificação, como: fagotipagem, análise de plasmídeos, biotipagem, sensibilidade aos antibióticos e análises genômicas [enzimas de restrição e PCR (*polymerase chain reaction*)].

Existem no mercado inúmeros kits para identificação rápida de salmonela. De 24 a 48 horas a amostra é declarada positiva ou negativa para o gênero *Salmonella*. Porém, por não haver o isolamento, não é possível classificar as salmonelas por sorotipos. Nesse caso, parte da informação epidemiológica é perdida. Esse tipo de análise geralmente é realizado em alimentos de consumo humano, principalmente os cárneos, em frigoríficos, onde o objetivo é reconhecer se está presente ou ausente. Essas análises rápidas são baseadas em sondas moleculares ou no sistema ELISA por captura de antígeno. Também já está disponível no mercado a identificação de sorotipos por técnicas moleculares. A grande vantagem dessa tecnologia é a rapidez; porém, o custo é o maior fator limitante, e nem todos os sorotipos podem ser identificados. Acredita-se que em futuro breve toda a identificação será feita por meios moleculares, e não sorológicos. A ribotipagem é outra metodologia de subtipificação, mas a sofisticação tecnológica e o custo têm sido as grandes limitantes.

Pulorose

1 Conceituação

A pulorose, uma das salmoneloses tíficas das aves, é uma doença infecciosa, aguda ou crônica, causada pela *S. Pullorum* e pela *S. Gallinarum*. Pela importância econômica e pelas suas características, ela é reconhecida como uma das doenças mais antigas. Desde o início de sua descrição, foi tida como muito grave e limitante à expansão da avicultura. A mortalidade, em muitos casos, pode atingir praticamente 100%. Em 1913 foi desenvolvido um teste macroscópico de aglutinação em tubo para detectar aves positivas (portadoras) e em 1931, padronizado o teste de aglutinação com sangue total, tornando mais prático o monitoramento devido à sua simplicidade de execução. Esses testes facilitaram o estabelecimento de programas de erradicação e permitiram à avicultura atingir o *status* atual. A maioria dos países que contam com avicultura comercial possui plano de monitoramento e erradicação para pulorose, pois sua endemicidade é incompatível com a exploração avícola competitiva. Embora outras aves possam se infectar, a pulorose está muito adaptada a galinhas e perus, e as aves de fundo de quintal são os grandes reservatórios da *S. Pullorum*. Apesar de exposição massiva pelo contato com aves doentes, humanos raramente têm sido infectados.

Devido à sua importância para as aves reprodutoras, a pulorose é uma enfermidade de notificação e sacrifício obrigatórios no Brasil e na maioria dos países de avicultura comercial. É uma das doenças do Programa Nacional de Sanidade Avícola do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o qual estabelece que os plantéis de aves comerciais e de material de multiplicação genética (reprodutoras) devem manter-se livres não apenas para aumentar a produtividade como também para conquistar e/ou manter mercados internacionais.

2 Etiologia

2.1 O agente e suas características morfológicas

A *Salmonella Pullorum* é uma bactéria gram-negativa de forma cocobacilar, imóvel, anaeróbia facultativa, não formadora de esporos. Apresenta antígenos somáticos (O) 1, 9 e 12 e não possui antígeno flagelar "H", caracterizando-se como uma salmonela imóvel. Pertence ao grupo D do esquema de classificação de Kauffman-White e sua estrutura antigênica se assemelha ao da *S. Gallinarum*, agente etiológico do tifo aviário. Embora a pulorose e o tifo aviário sejam doenças distintas, os respectivos agentes etiológicos são antigenicamente iguais, indistinguíveis sorologicamente, mas diferenciadas através de algumas reações bioquímicas e por procedimentos de caracterização molecular, como a prova de PCR.

2.2 O agente e suas características epidemiológicas

2.2.1 Infectividade e persistência

A *S. Pullorum* apresenta alta infectividade (doses baixas de salmonelas já causam infecção) para as aves de modo geral e se difunde com relativa rapidez no lote e entre lotes. Uma vez introduzida em certa população de aves de determinada área geográfica, pode permanecer por longo tempo. A permanência é favorecida pela resistência do agente às condições do ambiente, formação de portadores, infecção crônica, elevado número de aves suscetíveis (domésticas e silvestres) e transmissão vertical.

2.2.2 Patogenicidade

Existem algumas diferenças de patogenicidade (frequência de casos de doença) entre as amostras da *S. Pullorum*, mas para fins de controle e erradicação não são significativas e, portanto, parte-se do princípio de que todas são igualmente patogênicas. Quanto à suscetibilidade, aves jovens são mais acometidas que as adultas.

2.2.3 Virulência

É bastante alta em aves jovens (2 a 3 semanas de vida), avaliada pela severidade da manifestação clínica e pouco significativa em aves adultas. Há evidências de que a diferença da virulência em relação

à idade estaria relacionada com o aumento da quantidade de linfócitos circulantes e com a estabilização da temperatura corpórea.

2.2.4 Resistência

A *S. Pullorum* é um organismo relativamente resistente no ambiente e pode sobreviver por meses fora das aves desde que protegida por matéria orgânica. A seguir, alguns detalhes nas diferentes condições:

- **Ambiente:** destruída pela ação da luz solar direta em 24 horas; se protegida, sobrevive por mais tempo; quando dessecada, sobrevive por alguns dias; em roupas contaminadas e em ambiente escuro, sobrevive por vários meses; em fezes, mantém-se viável por 11 e 2 dias respectivamente em locais fechados e abertos.
- **Ração e cama:** pode sobreviver por meses na ração e também por vários meses em cama estocada a 25°C. A atividade de água tem revelado ser importante na sobrevivência de salmonelas nas instalações. Embora camas armazenadas favoreçam a sobrevivência de salmonelas, as usadas parecem não beneficiar a sobrevivência longa, provavelmente devido à elevação de pH pela amônia.

■ Agentes físicos

Calor: temperaturas de cocção ou de forno eliminam rapidamente a bactéria e o tempo de exposição é inversamente proporcional à temperatura de exposição e ao volume do material. Temperatura de 60°C destrói em 10 minutos; a peletização a 80°C, em menos de 1 minuto.

Desinfetantes: a *S. Pullorum* é sensível à maioria dos desinfetantes de uso comum, como amônia, cloro e produtos à base de fenóis. O formol é bastante eficiente, tanto na desinfecção das instalações como na fumigação de ovos e no incubatório. A sua limitação de uso deve-se à toxicidade a que está sujeito o operador. Peróxido de hidrogênio também é eficiente contra a *S. Pullorum*.

2.2.5 Imunogenicidade

Embora haja necessidade de mais conhecimento sobre imunogenicidade da *S. Pullorum*, mas, como em relação às demais salmonelas, sabe-se que ela induz quantidade expressiva de anticorpos. A ocorrência de aves reagentes para anticorpos circulantes é maior entre fêmeas e possivelmente está relacionada com a presença da infecção nos folículos ovarianos. Em infecções experimentais por via oral, em pintinhos de 4 dias de idade, revelaram aparecimento de aglutininas duas a cinco semanas após o desafio. Porém, quando aves foram infectadas na idade adulta, desenvolveram anticorpos mais rapidamente, em uma a duas semanas, que persistiram por longo tempo em presença de infecção. A detecção de aglutininas no sangue (soro) é ainda um dos melhores recursos e dos mais utilizados para monitoramento e identificação para posterior sacrifício de aves. Porém, a confirmação da infecção é sempre baseada no isolamento.

No caso das infecções de campo, uma a duas semanas depois do início dos sinais clínicos a ave responde com produção de anticorpos circulantes passíveis de serem detectados sorologicamente. Existem antígenos comerciais para testes de soroaglutinação rápida (SAR) e soroaglutinação lenta em tubos (SLT), que são utilizados no monitoramento das vacinas e das infecções de campo. Estes são úteis para detectar indistintamente anticorpos contra a *S. Gallinarum*, a *S. Pullorum* e a *S. Enteritidis*. Nas infecções pela *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, a ave responde com abundante produção de anticorpos, facilitando sobremaneira o monitoramento sorológico da doença. Esse fato nem sempre é observado nas salmoneloses paratíficas.

A *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum* não possuem antígenos flagelares, porém expressam os antígenos somáticos (O) 1, 9 e 12, que são úteis para a avaliação de resposta imune. Embora as estruturas antigênicas sejam idênticas, a *S. Pullorum* apresenta algumas variações no antígeno 12, que é diferenciado em antígenos 12₁, 12₂ e 12₃. Numa população de bactérias parece haver produção variável desses antígenos e essa pequena variação antigênica foi evidenciada quando amostras da *S. Pullorum* variantes infectaram aves e a resposta sorológica não foi detectada pela SAR. Embora esse fenômeno tenha sido relatado, não parece ser muito comum, pois todos os programas de erradicação estão fundamentados no monitoramento sorológico, que vem apresentando bons resultados.

Merece destaque o fato de as aves portadoras apresentarem anticorpos circulantes e eliminarem a bactéria. Transmitem tanto via vertical como horizontal, indicando a pequena importância da imunidade humoral na eliminação do agente, e a imunidade celular parece ser mais relevante. Apesar dessa evidência, é provável que os altos títulos de IgG, induzidos pela infecção, impeçam a morte de pintinho/peruzinho, mas não impede que nasçam infectados. Adicionalmente, é possível que a ausência de flagelo não estimule de modo satisfatório a imunidade intestinal no início da infecção, com reduzida produção de interleucinas pró-inflamatórias, que facilitaria a septicemia.

3 Distribuição geográfica e prevalência

A pulorose apresenta distribuição geográfica cosmopolita. Embora existam áreas de baixa incidência ou indenes nos Estados Unidos, no Canadá e na Europa, existem relatos de ocorrências ainda frequentes, na África, nas Américas Central e do Sul e no México. Recentemente foram notificados alguns surtos em granjas comerciais da Dinamarca e da Alemanha. Atualmente esta erradicada em praticamente todos os plantéis de avós e matrizes de frangos de corte e em matrizes de galinhas de postura e de perus. Alguns casos de pulorose ocorreram em aves de fundo de quintal e em galinhas de postura comercial com programas de biossegurança deficientes, principalmente em granjas com idades múltiplas. Nos Estados Unidos é rara a pulorose em estabelecimentos comerciais, sendo os dois últimos focos descritos em 1992: um, em uma integração, e o outro, em granja informal. No passado, a *S. Pullorum* estava amplamente disseminada entre as criações de aves e foi considerada um fator limitante para a expansão da avicultura industrial no mundo. A introdução de programas de monitoramento e erradicação, associados aos rigorosos cuidados de biossegurança, permitiu o controle da doença e a expansão da avicultura de forma intensiva. Isso é válido tanto para galinhas como para perus.

No Brasil, a pulorose foi problema sanitário mais sério até as décadas de 1980 e 1990 e mais frequentemente em aves de postura comercial. Surtos esporádicos continuam ocorrendo no Brasil e em países vizinhos como Argentina, Colômbia, Venezuela, Peru e Bolívia.

A ocorrência é mais frequente em galinhas de postura comercial e menos em reprodutoras de corte. Em todos os países as aves de fundo de quintal são os grandes reservatórios da *S. Pullorum*.

4 Importância econômica

Entre todas as doenças de aves, a pulorose é uma das que mais preocupam economicamente o setor avícola e em especial quando se trata de reprodutoras. A mortalidade na progênie pode chegar a 50% e as aves sobreviventes continuam eliminando a salmonela e com desempenho severamente comprometido. Caso ocorra em aves reprodutoras, a recomendação é eliminar o lote, pois toda a progênie estará comprometida. Não é permitida a comercialização de aves positivas. Isso tudo se resume em perdas vultosas. Há ainda que se considerar os custos de monitoramento da doença e de todas as medidas de biossegurança nas granjas. Portanto, a manutenção das aves livres é onerosa, mas as perdas são extremamente significativas quando ocorre a doença.

5 Hospedeiros

5.1 Espécies suscetíveis

A *S. Pullorum* está muito bem adaptada na galinha, mas ocorre também em perus e menos frequentemente em faisões, galinhas-d'angola, codornas, papagaios e pardais. Além das galinhas e perus, as outras espécies parecem não ser muito importantes no aparecimento e disseminação dos surtos. Não há evidências de que mamíferos sejam afetados pela infecção espontânea, mas eles podem ser carreadores mecânicos.

5.2 Suscetibilidade ligada à idade

Alta mortalidade é observada quando a infecção ocorre por via vertical ou nas duas ou três primeiras semanas de vida. A infecção em aves adultas geralmente não causa mortalidade, mas a taxa de transmissão vertical é elevada e as aves permanecem como portadoras convalescentes por toda a vida, eliminando a salmonela principalmente pelo ovo e pelas fezes.

5.3 Suscetibilidade ligada à linhagem

É mais acentuada em determinadas linhagens pesadas comparativamente às leves e os mecanismos de seleção genética explicam a suscetibilidade ou resistência de linhagens, como ocorre com a Rhode Island Reds, New Hampshires e seus cruzamentos. Dentro das linhagens leves, as galinhas de postura comercial marrons mostram-se mais suscetíveis que as brancas. Em perus não existe diferença de suscetibilidade entre as linhagens comercialmente existentes.

6 Fatores predisponentes

Vários fatores podem favorecer o aparecimento da pulorose. Embora genéricos, o mais importante deles são as falhas nos cuidados de biossegurança. Geralmente são as pessoas, por contato, que levam a doença de um grupo de aves doentes para outro, suscetível. A criação de aves de diferentes espécies em uma mesma granja, aves de vida livre presentes nas criações industriais, incubação de ovos de aves de diferentes espécies e de diferentes origens são grandes favorecedores para o aparecimento e difusão da doença. Qualquer equipamento, veículo e mesmo alimento que têm contato com aves infectadas, principalmente com suas fezes, podem transmitir a salmonela para aves livres. Granjas comerciais devem ficar isoladas do contato com aves de fundo de quintal, pois estas podem ser portadoras. Nessas granjas também se deve evitar a criação de idades múltiplas no mesmo ambiente. Granjas que não praticam *all-in all-out* também estão predispostas ao aparecimento de pulorose.

7 Patogenia e mortalidade

A porta natural de entrada da salmonela é a via oral. Infecção pela via respiratória tem sido observada, mas não é significativa. Uma vez a salmonela ingerida, ela se multiplica em grande número no intestino e também na bolsa de Fabricius. Em seguida invade a corrente sanguínea e causa infecção generalizada (septicemia). As diferenças na habilidade da *S. Pullorum* em sobreviver e se multiplicar no fígado e no baço têm sido atribuídas a um mecanismo de multiplicação bacteriana no interior de células do sistema mononuclear fagocitário. Isso ocorre em galinhas e perus, e não em outras

especies de aves não suscetíveis. Esse fato ressalta a importância da imunidade celular na recuperação e limitação da infecção. A enfermidade se estabelece e as perdas ocorrem por causa do envolvimento sistêmico que a bactéria causa.

A mortalidade nos surtos de pulorose é variável. Quando a infecção ocorre em aves adultas, a mortalidade pode ser baixa ou nula, embora a infecção persista e haja grande passagem da salmonela via vertical. Quando a infecção ocorre em idades jovens, geralmente transcorre com alta mortalidade. Conforme a idade aumenta, também aumenta a resistência e reduz a mortalidade. As maiores taxas de perdas são observadas quando a infecção ocorre via vertical, ou seja, as aves já nascem infectadas. Nesses casos a mortalidade atinge o pico entre a segunda e a terceira semana de vida e pode matar mais de 50% das aves infectadas. As poucas que sobrevivem apresentam crescimento retardado e são fontes disseminadoras como portadores por toda a vida.

7.1 Diagnóstico

7.1.1 Diagnóstico presuntivo

Diferentemente das salmonelas paratíficas, o diagnóstico presuntivo da pulorose pode ser conduzido com base no histórico, evolução clínica, sinais e lesões. A manifestação da doença a partir dos primeiros dias de vida sempre está associada à infecção das progenitoras (matrizes). Além disso, por causa da alta taxa de transmissão, os irmãos do lote suspeito também devem apresentar os mesmos sinais. A presença de anticorpos circulantes reforça a suspeita. Porém, é importante considerar que na prova da soroaglutinação rápida pode haver reações cruzadas com outras salmonelas do grupo D, principalmente a *S. Gallinarum* e a *S. Enteritidis*. Também nos primeiros três a cinco dias após o início dos sinais clínicos a sorologia pode estar negativa por falta de tempo para soroconversão (período lag). As provas sorológicas mais utilizadas são aglutinação rápida em placa com sangue total ou soro, soroaglutinação lenta em tubo e microaglutinação.

A confirmação do diagnóstico presuntivo somente é obtida pelo isolamento e identificação da *S. Pullorum*. Baço, fígado, coração, ovários, gema e ceco são os órgãos de escolha para isolamento bacteriano;

porém, a salmonela pode ser recuperada de qualquer órgão com lesão. Para todos os detalhes de isolamento e identificação, ver “Isolamento e identificação de salmonelas”, na página 124 deste livro.

7.12 Diagnóstico clínico

A infecção das galinhas pode ocorrer em qualquer idade, mas a doença é mais severa em aves jovens, de 1 a 4 semanas de vida, principalmente quando infectadas pela via vertical. A intensidade dos sinais clínicos (virulência) está diretamente dependente da idade da ave e do momento da infecção. Os sinais clínicos de pulorose se manifestam em aves jovens e as primeiras evidências aparecem frequentemente no incubatório: alguns embriões morrem, pintinhos morrem logo após a eclosão e ainda há os que nascem muito fracos, podendo ser refugados no incubatório ou enviados para o campo, onde se observa aumento de morbidade e mortalidade durante a primeira semana de vida. Esses sinais clínicos são: debilidade geral, prostração, penas eriçadas, inapetência e aglomeração perto da fonte de calor ou nos cantos do galpão. Observam-se também eliminação de fezes esbranquiçadas (presença de uratos) e empastamento cloacal, razão pela qual a doença foi conhecida como “diarreia branca”. Alguns pintos podem apresentar artrite, edema do coxim plantar ou dificuldade cardiorrespiratória. As perdas por mortalidade são mais elevadas na segunda e terceira semanas; em seguida, diminuem. As aves que sobrevivem geralmente apresentam tamanhos desuniformes e baixo desempenho.

Aves adultas que se infectam e não adoecem quando jovens geralmente não manifestam sinais da doença na vida adulta, apesar de serem portadoras sadias. Quando a infecção ocorre na idade adulta, podem ou não apresentar sinais como diarreia, aves refugos, falsas poedeiras e diminuição na produção. Algumas aves eventualmente apresentam prostração, sonolência, abdômen distendido e locomoção ou postura de pinguim, que se deve principalmente à peritonite. Os lotes infectados apresentam produção de ovos abaixo do padrão e às vezes redução da fertilidade e da eclosão. A progênie de reprodutoras infectadas pode apresentar morbidade e mortalidade variável de acordo com a taxa de transmissão vertical e a amostra da *S. Pullorum* envolvida. Caso haja tratamento com antibiótico, as manifestações clínicas desaparecem e, após suspensão do tratamento,

há remissão de alguns sinais. A imunização geralmente previne os sinais clínicos, mas não assegura a eliminação da infecção.

De modo geral, quando mais de 10% das reprodutoras estão sorologicamente positivas na prova de soroglutinação rápida, a morbidade na progênie varia de 50% a 100% e nota-se aumento da frequência de pintos com septicemia (febris), refugos e aumento de mortalidade com os sinais acima descritos. Ocasionalmente, progênie de lotes positivos pode apresentar poucos sinais clínicos.

Deve-se efetuar diagnóstico diferencial de colibacilose, tifo aviário, arizonose e onfalite de diferentes etiologias. As lesões nodulares devem ser diferenciadas de Marek e leucose; as lesões articulares, de estafilococose e eventualmente de *Mycoplasma synoviae*.

7.13 Diagnóstico anatomopatológico

- **Lesões macroscópicas:** as lesões mais evidentes são observadas em aves jovens. Pintos infectados verticalmente que manifestam septicemia aguda e morrem na primeira semana de vida geralmente apresentam onfalite e peritonite com resquícios de gema não absorvida. Pintos que sobrevivem à infecção, a partir dos 10 dias de idade, podem apresentar lesões de necrose com aspecto nodular de cor esbranquiçada ou acinzentada e de consistência firme em vários órgãos, principalmente coração, fígado, parede da moela, intestino e pâncreas. O baço e o fígado podem apresentar-se hipertrofiados, com coloração mais escura e aspecto marmorizado ou com petéquias. Nas articulações do tibiotarso com o metatarso e do metatarso com as falanges pode ocorrer acúmulo de material seroso ou purulento. Menos frequente é a lesão pulmonar, mas, quando ela ocorre, há perda de coloração e alterações inflamatórias. Pode-se observar também ceco distendido, sem conteúdo e com retenção de tecido necrótico de coloração branco-amarelada no lúmen.

A maioria das aves adultas não apresenta nenhum tipo de lesão. No caso de aves doentes com aumento de volume abdominal, pode-se observar peritonite e/ou ovário com muitos folículos atrésicos, pedunculados, hemorrágicos ou amarelados. Nas aves prostradas e sacrificadas, o fígado pode estar aumentado de volume e com aspecto marmorizado ou com lesões puntiformes de coloração branca. Pode-se observar

também esplenomegalia, à semelhança do que ocorre no tifo aviário. Algumas aves podem apresentar formações nodulares esbranquiçadas semelhantes a tumores no coração, moela, mesentério, parede intestinal e outras vísceras.

- **Lesões microscópicas:** o exame histopatológico é complementar e pode contribuir para o diagnóstico, embora por si só não seja confirmatório, pois não existem lesões específicas de pulorose.

Pinto de corte:
gema parcialmente
absorvida, caso de
plurose de origem
vertical.



Pinto de corte:
empastamento
da cloaca, achado
frequentemente
em surtos de
pulturose.



Coração: formações
nodulares no coração
de frangos de corte
por ocasião do abate,
caso de *Salmonella*
Pullorum atípica.



Na fase aguda ou início da colonização dos órgãos, observam-se congestão e necrose focal localizadas principalmente no fígado, baço e ceco, com afluxo predominantemente de células mononucleares e heterófilos. Lesões nodulares podem estar presentes nos diferentes tecidos ou órgãos, com acúmulo predominante de células linfoides e mononucleares e/ou hiperplasia linfóide e centros germinativos. Em alguns casos, principalmente no peritônio e ovário, é possível observar a formação de granulomas com infiltração de células mononucleares, formação de células gigantes, células epitelioides e afluxo de células linfoides circunscrevendo a massa de tecido necrosado. Apesar de essas lesões poderem ser confundidas com várias outras patologias, as alterações encontradas no coração e no proventrículo são muito sugestivas de pulrose. No início se observa necrose das miofibras com infiltração mista de heterófilos, linfócitos e células plasmáticas. Nos estágios mais avançados, essas células são repostas por quantidades maciças de histiócitos, formando nódulos que sobressaem da superfície do epicárdio. Esses nódulos, macro e microscopicamente, devem ser diferenciados de tumores linfoides causados por Marek ou retrovírus.

7.14 Diagnóstico laboratorial direto

O diagnóstico definitivo é feito pelo isolamento e posterior identificação da salmonela. A diferenciação entre salmonelas paratíficas pode ser realizada por provas bioquímicas e sorológicas, porém a diferença entre a *S. Pullorum* e a *S. Gallinarum* só é possível por meio de provas bioquímicas por serem sorologicamente indistinguíveis.

Para identificação do agente, amostras devem ser obtidas de aves ou ovos que não tenham sido submetidas a tratamentos com drogas antimicrobianas. Suabes ou amostras assepticamente colhidas de tecidos infectados ou de conteúdo intestinal ou cloacal são os mais recomendados. Isolamento pode também ser realizado a partir de ovo, embrião, fezes e restos (debris) de incubatório, especialmente penugens, poeiras, casca de ovo quebrado ou fundo de caixa de pintinhos. Amostras de tonsilas cecais, de fígado e de baço de aves infectadas são preferíveis a amostras fecais e do ambiente.

É importante ter em mente que amostras de tecidos devem ser inoculadas em caldo enriquecido seletivo ou em meio ágar seletivo, como ágar verde-brilhante, imediatamente após a colheita de material. O uso de pré-enriquecimento favorece os contaminantes secundários, que se sobrepõem à *S. Pullorum*, por isso não é recomendado. Na impossibilidade de semear imediatamente, pode-se estocar as amostras a 4°C. Caso a semeadura demore mais que três a cinco dias, a amostra deve ser congelada. Para mais detalhes de isolamento e identificação, ver "Isolamento e identificação de salmonelas", na página 124 deste livro.

7.15 Diagnóstico laboratorial indireto

O diagnóstico indireto está fundamentado no apoio da sorologia. Existem no mercado antígenos padronizados para realização das provas de soroaglutinação rápida (SAR), soroaglutinação lenta em tubos (SLT), microaglutinação e hemaglutinação. A prova de hemaglutinação geralmente é aplicada no campo e apresenta grau maior de reações inespecíficas, pois é realizada com sangue total, e não com soro. Por meio desses testes não há como diferenciar entre a *S. Gallinarum*, a *Pullorum* e a *Enteritidis*. No caso da *S. Enteritidis*, que possui antígeno flagelar, há um teste de ELISA com base nesses antígenos, que as diferenciam da *Pullorum* e da *Gallinarum*. Além disso, resultados sorológicos negativos não garantem que a ave esteja absolutamente livre da infecção. Infecções crônicas com longos tratamentos com antibióticos podem apresentar sorologia negativa, mas as aves permanecem infectadas.

8 Epidemiologia

A transmissão da *S. Pullorum* pode ocorrer tanto por via vertical como horizontal. Na infecção vertical, as aves desenvolvem septicemia e as sobreviventes tornam-se permanentemente infectadas (portadoras). No caso da infecção horizontal, a transmissão é orofecal; portanto, o contato e a ingestão da bactéria presente em materiais contaminados indicam ser mais importante do que a transmissão aerógena. Em decorrência da localização intestinal, a eliminação ocorre principalmente pelas fezes, e após a septicemia a *S. Pullorum* atinge óvulos (ovo) e sêmen. Na transmissão orofecal são importantes vias

de transmissão a cama, a água, os alimentos, os fômites, os equipamentos, os veículos contaminados com material fecal ou resíduo de incubatório de lotes positivos. O homem, através de vestuário e materiais de uso rotineiro, e os animais silvestres e domésticos podem carrear a bactéria de uma granja para outra. Aves infectadas com a *S. Pullorum*, independentemente de apresentarem doença, permanecem portadoras por toda a vida, são sorologicamente positivas e apresentam infecção no ovário, produzindo intermitentemente ovos contaminados, que podem chegar a 30% da produção. Diferentemente das salmonelas paratíficas, a *S. Pullorum* é eliminada em grande número e de forma consistente, facilitando assim o diagnóstico pelo isolamento e pela sorologia. Galinhas de fundo de quintal têm apresentado a infecção na ausência de sinais clínicos e são fontes permanentes de disseminação.

A transmissão por contato pode ocorrer entre aves de um mesmo aviário, entre lotes e no incubatório. No acompanhamento de surtos, quando se investiga a origem, verifica-se que está sempre relacionada ao contato das aves suscetíveis com aves doentes ou portadoras. O incubatório pode ser um grande disseminador de pulorose, pois a incubação de ovos positivos no mesmo ambiente de ovos negativos certamente favorece a transmissão horizontal da infecção.

8.1 Cadeia de transmissão

O conhecimento da cadeia de infecção aumenta a eficiência das medidas de profilaxia. Por isso é importante entender os mecanismos de disseminação de doenças transmissíveis em populações, considerando os animais infectados como os doentes, portadores e reservatórios (fontes de infecção), não infectados e não doentes (suscetíveis) e os diferentes componentes do ambiente que participam da cadeia de transmissão (vias de transmissão).

8.1.1 Fontes de infecção

O reconhecimento dos portadores e reservatórios tem grande importância epidemiológica, visto que doentes são rapidamente detectados, permitindo pronta atuação profilática. Entretanto, portadores eliminam agentes de doenças por longo tempo na ausência de

sinais e são identificados apenas por recursos laboratoriais ou pela análise criteriosa dos indicadores de saúde. Assim, esta tem que ser feita para pronta adoção de medidas de profilaxia e redução de sua presença na população, limitando a disseminação e minimizando os prejuízos econômicos.

Reservatórios participam diretamente da introdução ou reintrodução de um agente de doença erradicado ou controlado em um plantel. Geralmente são representados por aves ou animais de vida livre, sinantrópicos, selvagem ou de criação informal. Estes constituem perigo sempre iminente e devem ser objeto de criteriosas ações profiláticas para mantê-los fora do acesso à granja.

8.12 Vias de eliminação

A via de eliminação mais importante é a fecal. Mas a *S. Pullorum* pode ser eliminada pela urina, que se mistura com as fezes. No caso de aves de postura, o ovo é um importante meio de eliminação. Havendo eclosão, embriões e progênie são contaminados e eliminam a salmonela.

8.13 Vias de transmissão

Para transmissão, apresentam grande importância epidemiológica os objetos inanimados/fômites (contágio indireto), veículos, homem e alimentos. No caso de aves em produção, a transmissão transovariana é muito importante e norteia as medidas de saneamento, sanitização e de biossegurança.

8.14 Porta de entrada

A principal porta de entrada é a via oral. No caso de reprodutoras, a progênie já nasce infectada pela via vertical.

8.15 Suscetibilidade

Galinhas são as mais suscetíveis entre as aves domésticas. Em seguida vêm os perus e em menos frequência faisões, galinha-d'angola, codornas, papagaios e pardais. Aves silvestres agem mais como carreadores. Pintinhos e peruzinhos são mais suscetíveis do que as aves adultas.

8.2 Profilaxia

8.2.1 Tratamento

Vários antibióticos e quimioterápicos podem ser utilizados para tratamento das infecções da *S. Pullorum*. Eles reduzem a morbidade e a mortalidade e podem restabelecer a produção. Os mais empregados são: sulfas, sulfa-trimetoprim, apramicina, fosfomicina, quinolonas e tetraciclina. O ceftiofur e a gentamicina também podem ser usados em aves de 1 dia de idade no incubatório ou na transferência (18º dia de desenvolvimento embrionário). É importante considerar que nenhum tratamento elimina totalmente a bactéria, pois as aves tratadas permanecem portadoras, eliminando a salmonela no meio ambiente. O tratamento com antibióticos reduz a intensidade da manifestação clínica, que varia de branda a ausência de sinais, e também pode interferir nas possibilidades de isolamento bacteriano e na sorologia.

Pelo fato de a pulrose e o tifo aviário serem doenças de notificação e sacrifício obrigatórios, de acordo com as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, não se recomenda efetuar o tratamento dos lotes até a realização dos exames laboratoriais (sorologia e bacteriologia) para a certificação do diagnóstico. Tratamento intensivo e periódico com antibióticos de aves positivas pode reduzir a frequência de aves com manifestação clínica, mas pode simultaneamente diminuir a quantidade de anticorpos circulantes a ponto de não serem detectados pelo SAR e permanecerem como portadoras.

8.2.2 Identificação e sacrifício de portadoras

Conforme a legislação vigente no Brasil, reprodutoras de corte de galinhas e perus e de postura comercial, quando positiva para a *S. Pullorum*, devem ser eliminadas. Ver legislação no final deste capítulo.

8.2.3 Controle e prevenção

O princípio geral de prevenção para a *S. Pullorum* está fundamentado na obtenção de aves livres e criação delas em ambiente livre da bactéria pela adoção de medidas rigorosas de isolamento e biossegurança

das granjas. Para avós e matrizes de corte de perus e galinhas, não é permitido o uso de vacina específica para a *S. Pullorum*. Para matrizes, pode-se usar vacina inativada contra a *S. Enteritidis*, que, por ser do mesmo grupo (D), há proteção cruzada parcial. Em galinhas de postura comercial é permitido o uso de vacina inativada e vacina viva cepa 9R. A criação de aves em idade única é uma medida importante para prevenir introdução da doença em granjas, bem como criar somente aves de origem conhecida, livres da *S. Pullorum*.

No caso em que há detecção da *S. Pullorum* deve-se isolar imediatamente a granja/propriedade e proceder a medidas de erradicação. Esse é o meio mais eficaz para controlar o surto e prevenir a disseminação. Inicia-se pela interdição da propriedade, controle do fluxo de pessoas e veículos, eliminação das aves, limpeza, lavagem e desinfecção rigorosa das instalações e equipamentos e vazio sanitário com duração mínima de três semanas. A cama deve ser amontoada para fermentação, visando à destruição de salmonelas e outros agentes, enterrada ou incinerada.

No Brasil, o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) está prioritariamente voltado para as granjas comerciais, que compulsoriamente devem adotar medidas de biossegurança e monitoramento (sorológico e de isolamento), para que o lote receba certificação do programa (ver legislação, no final deste capítulo).

Tifo aviário

1 Conceituação

Tifo aviário (TA) é uma doença bacteriana aguda que acomete principalmente aves adultas. Caracteriza-se pela presença de diarreia frequentemente esverdeada, hepatomegalia, esplenomegalia e elevada mortalidade. É uma doença bastante antiga, descrita pela primeira vez em 1888, cujo agente foi isolado em 1889. Nessa mesma data foi demonstrado ser distinto da *Pasteurella multocida*, agente etiológico da cólera aviária. Inicialmente foi denominado *Bacillus gallinarum*, mais tarde *B. sanguinarium* e finalmente *Salmonella Gallinarum*. O termo “tifo aviário” foi utilizado a partir de 1902 por sua semelhança com a febre tifoide humana e com o objetivo de diferenciá-lo da cólera aviária, doença septicêmica aguda e de alta mortalidade de aves adultas. As características gerais do TA são muito similares às da pulorose, pois ambos os agentes se transmitem verticalmente, causam septicemia, alta mortalidade e elevadas perdas econômicas. Uma das principais diferenças entre as duas enfermidades é que o tifo é mais patogênico para aves adultas e a pulorose, para aves jovens. A avicultura comercial não pode ser competitiva convivendo com tifo e pulorose.

Existe uma hipótese, ainda não aceita por unanimidade, de que o controle da pulorose e do tifo aviário em aves comerciais tenha criado condições para a disseminação da *Salmonella* Enteritidis. Essas observações surgiram com a implementação de programas de erradicação das salmonelas tíficas e consequente redução da incidência em plantéis avícolas, mas com simultâneo aumento da infecção por *Salmonella* Enteritidis.

Os primeiros registros de TA no Brasil datam de 1919 em Minas Gerais e 1939 em São Paulo. Durante muitos anos a doença esteve amplamente distribuída na avicultura em geral, mas atualmente os surtos ocorrem ocasionalmente em aves de corte e mais frequentemente em aves de postura comercial e de fundo de quintal.

2 Etiologia

2.1 Características morfológicas do agente

A *Salmonella Gallinarum* é o agente etiológico de TA. Pertence à família *Enterobacteriaceae* e se assemelha antigenicamente à *Salmonella Pullorum*, razão pela qual ocorre reação cruzada entre elas nos testes sorológicos. Ambas as bactérias não possuem flagelos (antígenos flagelares H ausentes), sendo, portanto, imóveis, e apresentam em comum os antígenos somáticos 1, 9 e 12, que as colocam no grupo D do esquema de Kauffman-White. A *S. Gallinarum* é um bacilo gram-negativo, não formador de esporos e relativamente resistente no ambiente. A diferenciação entre a *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum* é realizada bioquimicamente, bem como conduzida por técnicas moleculares como PCR, porém não se diferenciam sorologicamente.

Existem evidências que demonstram que a passagem sucessiva da *S. Gallinarum* em meios artificiais (laboratório) conduz à diminuição da virulência. Portanto, liofilização ou estocagem a -80°C passam a ser importantes para a estabilidade das amostras por longos períodos.

A resistência geral da *Salmonella Gallinarum* no ambiente se assemelha muito às demais salmonelas, exceto que tende a resistir menos ao calor e a agentes químicos, como desinfetantes.

2.2 Características epidemiológicas

2.2.1 Infectividade

A capacidade de infectividade para as aves da *S. Gallinarum* pode ser considerada alta.

2.2.2 Patogenicidade

A patogenicidade tem muito em comum com a *S. Pullorum*, exceto que esta última é mais patogênica para aves jovens, enquanto a *S. Gallinarum* o é para aves adultas e interfere no desempenho e produção da ave.

2.2.3 Virulência

A virulência pode ser considerada alta nas aves adultas e média baixa em jovens. Em aves leves, a virulência é menor do que em aves pesadas ou de corte.

2.2.4 Resistência

- **No ambiente:** resistente às condições gerais do ambiente, pode permanecer viável por muitos meses; é destruída pela ação da luz solar em 24 horas; alta capacidade de sobreviver quando protegido em água e da ação direta da radiação solar (20 dias); dessecada, sobrevive por cerca de 90 horas; em roupas contaminadas e mantidas em ambiente escuro, sobrevivem por mais de 200 dias; no fígado, sobrevive por mais de 4 meses a -20°C ; em fezes de pintos infectados, podem sobreviver 11 dias em locais fechados e 2 dias em locais abertos.
- **Na ração:** foi observado que as salmonelas em geral sobreviveram por vários meses na ração dessecada e em cama estocada a 25°C . A atividade de água tem revelado ser importante na sobrevivência de salmonelas nas instalações. Embora camas armazenadas favoreçam a sobrevivência de salmonelas, as usadas parecem não favorecer sobrevida longa, que poderia se dever à elevação de pH pela amônia e baixa umidade.
- **Na casca de ovos:** a resistência no exterior dos ovos durante e depois da lavagem parece depender do pH, temperatura e presença de sólidos de ovos na água e da taxa de resfriamento depois da lavagem.
- **Agentes físicos**
 - Calor:** temperaturas de cocção ou de forno eliminam a bactéria, e o tempo de exposição é inversamente proporcional à temperatura de exposição. A peletização destrói a bactéria. Temperaturas de 60°C por 10 minutos inativam a *S. Pullorum*. Baixas temperaturas, principalmente congelamento, preservam a bactéria.

- **Desinfetantes:** a *S. Gallinarum*, assim como a *S. Pullorum*, são sensíveis aos desinfetantes em geral, como amônia, cloro e produtos à base de fenóis. Quando permitido usar, o formol é bastante eficiente nas instalações, na fumigação de ovos e no incubatório. Peróxido de hidrogênio também é eficiente contra a *S. Gallinarum*.

2.2.6 Imunogenicidade

Da mesma forma que para a *S. Pullorum*, há muito ainda que aprender sobre a imunogenicidade da *S. Gallinarum*. Os programas de erradicação têm eliminado o agente sem muita compreensão da resposta imune. A capacidade de despertar uma resposta imune foi estudada e comprovada em diferentes circunstâncias de infecção natural e experimental com diferentes doses, vias de inoculação e idade das aves. Na maioria das vezes há resposta consistente e de longa duração. A *S. Gallinarum* desperta imunidade humoral e celular – a primeira é importante para fins de diagnóstico e a segunda, para limitar a infecção no organismo da ave infectada. Considerando a estrutura antigênica, a resposta e os testes sorológicos e as vacinas disponíveis, a imunidade é muito similar entre a *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum*. Os testes sorológicos atuais não as distinguem, são necessárias provas bioquímicas. Para mais detalhes, ver “Imunogenicidade” no item sobre pulorose (página 133).

2.2.7 Persistência

A persistência é favorecida pela resistência no ambiente, formação de portadores, infecção duradoura, considerável número de aves suscetíveis e transmissão vertical.

3 Distribuição geográfica e prevalência

O TA está amplamente disseminado nas criações de aves de todo o mundo, até mesmo no Brasil, principalmente nas aves de fundo de quintal e poedeiras comerciais. É considerado endêmico em galinhas de vida livre. No caso de aves reprodutoras de corte, está praticamente erradicado em muitos países desenvolvidos da Europa,

nos Estados Unidos, no Canadá, na Austrália, no Japão e também no Brasil. Na criação de frangos de corte, exceto nos casos esporádicos de transmissão vertical, não há ocorrência de TA. A precocidade do abate certamente limita o aparecimento da doença. No caso de perus de corte, em que a idade de abate varia de 10 a 20 semanas, pode ocorrer infecção de campo (horizontal), mas no Brasil são apenas casos esporádicos. Surtos em matrizes, tanto de galinhas como de perus, são ocasionais e prontamente controlados por erradicação. A incidência de TA em aves de corte e de postura comercial é bem mais comum em vários países da América do Sul e Central que no Brasil. Essa enfermidade tende a aparecer com mais frequência onde há deficiência de cuidados de biossegurança.

Num período de dez anos, nos Estados Unidos, dos 458.000 casos de isolamento de salmonela de humanos apenas dezoito amostras foram identificadas como *S. Pullorum* e oito como *S. Gallinarum*. O isolamento dessas salmonelas não esteve associado à doença. A bactéria foi recuperada, mas provavelmente ela não estava multiplicando – é o que se denomina “salmonela de trânsito”. Por essa razão, clinicamente, a *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum* não são consideradas de risco para a saúde pública.

4 Importância econômica

Da mesma forma que a pulorose, o TA é uma das enfermidades que trazem preocupação econômica para a indústria avícola. Ainda está presente em muitas criações de postura comercial e ocasionalmente em reprodutoras de corte. Em caso de surto, a mortalidade no campo pode chegar a 50% e as aves sobreviventes continuam eliminando a salmonela, com desempenho severamente comprometidos. Nos lotes de reprodutoras, a recomendação é eliminar o plantel acometido, o que gera perdas econômicas muito grandes. Não é permitida a comercialização de aves positivas. A importância econômica também tem que ser medida pelos custos de monitoramento e principalmente de biossegurança, que são necessários implementar para prevenir a infecção. Portanto, a manutenção das aves livres também é onerosa. Nenhuma avicultura comercialmente competitiva pode conviver com surtos frequentes de TA – ela tem que ser controlada e, principalmente, prevenida.

5 Hospedeiros

A *S. Gallinarum*, à semelhança da *S. Pullorum*, é bactéria extremamente adaptada aos hospedeiros e raramente causa doença em outras aves que não galinhas e perus. Ocasionalmente são suscetíveis a patos, galinhas-d'angola, faisões, codornas, pardais, canários, papagaios, avestruzes e urus; porém, a infecção nessas espécies não parece causar mortalidade, nem perdas econômicas, como ocorre em galinhas e perus. Palmípedes e pombos parecem ser resistentes.

Suscetibilidade maior é observada em aves em crescimento e adultas, quando avaliadas pela frequência de ocorrência de casos, do que em aves jovens. Porém, no caso de transmissão vertical, as aves jovens também adquirem a infecção e essa relação hospedeiro-parasita difere da *S. Pullorum*, que acomete preferencialmente aves jovens. É também observada suscetibilidade ligada à genética, pois as linhagens pesadas são consideradas mais suscetíveis comparativamente às leves. No caso de galinhas de postura comercial, as aves brancas tendem a ser mais resistentes que as marrons.

6 Fatores predisponentes

Os fatores que dispõem o aparecimento do TA são basicamente os mesmos que causam o surgimento da pulorose. Alguns dos mais importantes são: criação de aves em idades múltiplas, granjas com aves de diferentes espécies, aves de vida livre presentes nas criações industriais, incubação de ovos de aves de diferentes espécies (perus e galinhas, por exemplo) e de diferentes origens. Aves de fundo de quintal são os grandes reservatórios. Pessoas, veículos e equipamentos que tenham contato com material contaminado, aves doentes ou portadoras são grandes disseminadores. As pessoas são o grande elo entre aves contaminadas e aves suscetíveis. Granjas que não praticam *all-in all-out* também são predispostas ao aparecimento de TA. Criações comerciais têm que ficar distantes ou limitadas do contato com aves de fundo de quintal.

7 Patogenia e mortalidade

A via oral é a grande porta de entrada da *S. Gallinarum*. Da mesma forma que sucede com a *S. Pullorum*, uma vez ingerida, a salmonela se multiplica em grande número no intestino. Há evidências de que a infecção também ocorre na bolsa de Fabrícus. Daí invade a corrente sanguínea e causa infecção generalizada (septicemia). A infecção também pode ocorrer pela via respiratória, mas não é significativa. As diferenças nas habilidades da *S. Pullorum* e da *S. Gallinarum* em sobreviver e se multiplicar no fígado e baço têm sido atribuídas a um mecanismo de multiplicação bacteriana no interior de células do sistema mononuclear fagocitário. Isso ocorre em galinhas e perus, e não em outras espécies de aves não suscetíveis à doença clínica. Esse fato ressalta a importância da imunidade celular na recuperação e limitação da infecção.

A mortalidade nos surtos de TA é variável. Quando a infecção ocorre em aves em crescimento ou adultas sem proteção, a mortalidade é alta. Quando ela sucede em idades jovens, as consequências tendem a ser menores, exceto quando há transmissão vertical, condição em que a mortalidade pode ser considerável. Conforme a idade aumenta, também aumentam a suscetibilidade e a mortalidade. Os índices de mortalidade são variáveis, oscilando entre 10% e 80%, e a letalidade tem atingido a cifra de 90%. As aves que sobrevivem são fontes disseminadoras e portadoras por toda a vida.

A mortalidade é mais frequente entre adultos, mas pode ser observada também entre jovens.

7.1 Diagnóstico

7.1.1 Diagnóstico presuntivo

O diagnóstico presuntivo depende da associação de informações epidemiológicas (idade, espécie animal, linhagem, tipo de criação, morbidade, mortalidade), clínicas e laboratoriais. Assim, a presença de sinais clínicos e lesões, associada ao histórico de mortalidade aguda em aves adultas, é a base para o diagnóstico presuntivo de TA. A detecção de anticorpos circulantes reforça a suspeita. Porém, é importante considerar que na prova da soroaglutinação rápida pode haver

reações cruzadas com outras salmonelas do grupo D, principalmente entre a *S. Gallinarum* e a *S. Enteritidis*. Como ocorre na pulorose, nos primeiros três a cinco dias da doença a sorologia pode estar negativa, por não ter transcorrido tempo suficiente para soroconversão.

Para avaliação sorológica, utilizam-se provas de aglutinação rápida em placa com sangue total ou soro, soroaglutinação lenta em tubo, microaglutinação ou teste de ELISA, quando disponível. O diagnóstico definitivo somente é conduzido pelo isolamento e identificação da *S. Gallinarum* a partir de baço, fígado, ovários e intestino, que são os órgãos de eleição para essa finalidade, embora a salmonela possa ser recuperada de qualquer órgão com lesão. Para todos os detalhes de isolamento e identificação, ver "Isolamento e identificação de salmonelas", na página 124 deste livro.

7.12 Diagnóstico clínico

Quando a doença ocorre em aves jovens em decorrência da transmissão vertical, os sinais clínicos do TA são muito parecidos e podem se confundir com os da pulorose, e somente o isolamento permite a diferenciação. É comum pintinhos e peruzinhos nascidos de matrizes infectadas morrerem ainda nas bandejas do incubatório. A maioria dos pintos/perus eclodidos manifesta debilidade e pode apresentar empastamento da cloaca, podendo ainda manifestar prostração, sonolência, falta de apetite, crescimento desuniforme e mortalidade na primeira e segunda semanas de vida.

A infecção em aves na fase de crescimento ou em adultas pode levar ao aumento de mortalidade súbita, prostração, apatia, anorexia e eliminação de fezes esverdeadas ou amarelo-esverdeadas.



Matriz de corte –
Prostração intensa,
caso agudo de tifo aviário.

A morbidade e a mortalidade geralmente são elevadas, mas podem variar com a idade, manejo, ambiente, outras enfermidades e estresse de transporte. A morbidade sempre é mais alta, pois algumas aves se recuperam. O tratamento com quimioterápicos diminui a mortalidade e a intensidade dos sinais clínicos, mas não impede que após alguns dias ou semanas o quadro clínico retorne. O primeiro surto em uma granja tende a produzir sinais mais evidentes e com perdas maiores, e a mortalidade pode ultrapassar os 50%. Em caso de infecção endêmica, as perdas e os sinais diminuem. É certo que o diagnóstico clínico mais acurado também depende da associação de informações epidemiológicas (idade, espécie animal, linhagem, tipo de criação, morbidade, mortalidade), clínicas e laboratoriais.

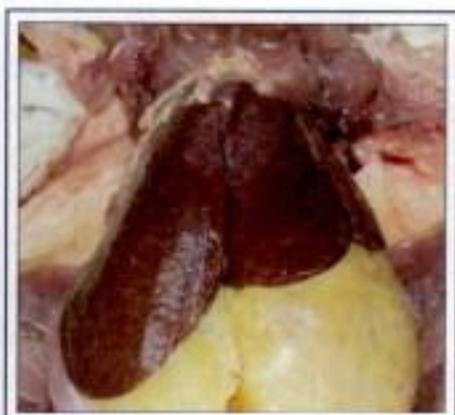
7.1.3 Diagnóstico anatomopatológico

- **Lesões macroscópicas:** nos casos de infecção em aves jovens, por transmissão vertical, as lesões encontradas podem ser não muito evidentes nos primeiros dias, mas, com a evolução dos casos agudos, observa-se congestionamento do fígado, baço e rins. No fígado podem ser notados alguns pontos esbranquiçados (necrose) e o saco da gema pode ou não estar alterado em sua absorção e cor. No intestino eventualmente ocorre enterite, com acúmulo de material necrótico na parede. Alguns focos de necrose (pontos esbranquiçados) podem aparecer em vários órgãos abdominais.

Nas aves em crescimento ou adultas, nos casos superagudos, as lesões macroscópicas podem estar ausentes, notando-se apenas hepatomegalia e esplenomegalia moderadas. Porém, na maioria das vezes o fígado e o baço estão aumentados em duas a três vezes o seu tamanho normal. Os rins também podem estar aumentados. As aves que resistem à infecção aguda geralmente apresentam fígado com focos de necrose de cor bronze-esverdeada, com consistência friável, peritonite, pericardite e enterite. A vesícula biliar pode estar repleta e distendida. Nos casos mais crônicos, pontos esbranquiçados eventualmente aparecem em vários órgãos internos. Aves em postura podem apresentar ruptura de folículos ovarianos ou atresia folicular. Intestino com lesões ulcerativas pode ser visto em perus.

- **Lesões microscópicas:** o exame histopatológico pode contribuir para o diagnóstico apenas de forma complementar, pois as lesões não são específicas. Microscopicamente, observam-se, na fase aguda ou no início da colonização dos órgãos, congestão e

Postura comercial –
Baço aumentado,
atresia folicular
e peritonite.
Caso superagudo
de tifo aviário.



Matriz de corte (a, b) – Fígado bastante aumentado e de cor bronze. Caso de campo de tifo aviário.

Fígado e baço –
Órgãos aumentados,
alteração comum em
casos de tifo aviário.



FOTOS: MERCOLARI

necrose focal, localizadas principalmente no fígado, baço e ceco. Observa-se o afluxo predominante de células mononucleares e heterófilos. Nas lesões nodulares presentes nos diferentes tecidos ou órgãos ocorrem o acúmulo predominante de células linfóides e mononucleares e/ou hiperplasia linfóide e centros germinativos. Em alguns casos, principalmente no peritônio e ovário, é possível observar formação de granulomas com infiltração de células mononucleares, formação de células gigantes, células epitelioides e afluxo de células linfóides circunscrevendo a massa de tecido necrosado.

7.14 Diagnóstico laboratorial direto

Para isolamento e identificação do agente, deve-se realizar colheita de amostras de aves ou ovos que não tenham sido recentemente tratados com antibióticos. É recomendado enviar ao laboratório fragmentos de baço, fígado, coração, ovários, conteúdo intestinal ou de outros órgãos que apresentem lesões e saco da gema, em caso de suspeita de transmissão vertical. Inocular material o mais breve possível depois da colheita, em meio de cultura de ágar enriquecido seletivo e não seletivo, como ágar verde-brilhante. Caso seja necessário, armazenar a 4°C por três a cinco dias; para períodos mais longos, congelar. A diferenciação entre a *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum* é conduzida por provas bioquímicas, visto que são indistinguíveis sorologicamente. Para mais detalhes de isolamento e identificação bioquímica e sorológica, ver parte introdutória deste capítulo.

7.15 Diagnóstico laboratorial indireto

Para o TA, o diagnóstico indireto tem o mesmo fundamento da pulorose, ou seja, se baseia na sorologia. Por si só ela não é confirmatória, mas tem grande importância nas medidas de erradicação e no monitoramento da doença. As provas mais utilizadas são soroaaglutinação rápida (SAR), soroaaglutinação lenta em tubos (SLT), microaaglutinação e hemaglutinação (aaglutinação com sangue total). Para estas, existem no mercado antígenos padronizados. A prova de hemaglutinação geralmente é aplicada no campo e apresenta um

grau maior de reações inespecíficas, pois é feita com o sangue total, e não com o soro. A grande vantagem é a sua praticidade. Não é recomendada para perus e patos pela baixa sensibilidade, o que resulta em elevado número de casos falso-positivos. No caso da *S. Gallinarum* é recomendado testar a partir de 4 semanas de idade, ressaltando que aves de menos de 4 semanas podem possuir imunidade passiva adquirida da mãe, que interfere no resultado da prova.

Por meio desses testes não há como diferenciar entre a *S. Gallinarum*, a *S. Pullorum* e a *S. Enteritidis*. No caso da *S. Enteritidis*, que possui antígeno flagelar, há um teste de ELISA com base nesses antígenos, que as diferenciam da *Pullorum* e da *Gallinarum*. Existe também um ELISA que identifica apenas a *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum*, mas não está disponível no Brasil. Além disso, resultados sorológicos negativos não garantem que a ave esteja absolutamente livre da infecção. Infecções crônicas com longos tratamentos com antibióticos podem apresentar sorologia negativa, mas as aves permanecem infectadas.

Quando testes sorológicos forem utilizados em programas para identificação de aves infectadas para posterior sacrifício, deve-se repetir pelo menos duas vezes, preferencialmente até que haja, para todo o lote, dois testes sucessivos negativos. Para as provas de soroprecipitação, um cuidado especial deve ser observado quanto à armazenagem dos soros, pois estes não podem ser congelados. O processo de congelamento faz com que haja precipitação de algumas proteínas e gere resultados falso-positivos. Caso o resultado seja negativo, é válido.

No Brasil, de acordo com a legislação vigente (PNSA), a realização e a interpretação das provas laboratoriais citadas acima deverão obedecer aos critérios estabelecidos em atos legais, normas e regulamentos técnicos específicos do MAPA, sendo as seguintes as provas utilizadas no monitoramento e diagnóstico laboratorial: aglutinação rápida em placa, com sangue total (hemoaglutinação) ou soro (soroprecipitação) SAR; aglutinação lenta em tubos (ALT) ou microaglutinação; e confirmação pelo diagnóstico de isolamento bacteriológico. As provas laboratoriais somente serão aceitas quando realizadas em laboratório oficial e/ou credenciado pelo MAPA para esse fim,

identificando o antígeno e o número da partida com data de vencimento. Outras provas laboratoriais poderão ser utilizadas, desde que previamente aprovadas pelo MAPA.

8 Epidemiologia

A *S. Gallinarum* estabelece a infecção com entrada pela via oral. A eliminação pelas aves contaminadas (portadoras e doentes) e pelos reservatórios (aves de vida livre de diferentes espécies) ocorre principalmente pelas fezes. Além da transmissão horizontal, ocorre também, e em altas taxas, a transmissão vertical. Após a penetração da bactéria no organismo da ave suscetível, ela alcança as células intestinais, onde se multiplicam e rapidamente se estabelece um quadro de septicemia. O tifo aviário é mais comum em aves adultas, embora possa também ocorrer em jovens. As aves sobreviventes permanecem portadoras, atuando como fontes de infecção do agente para aves suscetíveis. A transmissão ocorre através de alimentos, água, cama, roupas, calçados, veículos, fômites, equipamentos (das instalações de criação, incubatórios) contaminados.

8.1 Cadeia de transmissão

A eficiência de medidas de profilaxia depende do conhecimento dos mecanismos de disseminação da doença, da transmissibilidade em populações, considerando animais infectados e doentes (fontes de infecção), não infectados e não doentes (suscetíveis) e os diferentes componentes do ambiente (vias de transmissão) apresentados a seguir.

8.1.1 Fontes de infecção

As modalidades de fontes de infecção de importância epidemiológica são os portadores e reservatórios, visto que doentes são rapidamente detectados, permitindo pronta atuação profilática. Entretanto, portadores eliminam agentes de doenças por longo tempo na ausência de sinais e são identificados apenas por recursos laboratoriais ou pela análise criteriosa dos indicadores de saúde. Após identificação, medidas de profilaxia devem ser tomadas para reduzir ou eliminá-los da população, limitar a disseminação e reduzir os prejuízos econômicos.

Reservatórios participam diretamente da introdução ou reintrodução de um agente de doença erradicado ou controlado em um plantel, sendo geralmente representado por aves ou animais de vida livre, sinantrópicos, selvagem ou de criação informal. Estes devem ser objeto de criteriosas ações profiláticas para mantê-los fora do acesso à granja.

8.1.2 Vias de eliminação

As principais vias de eliminação da *S. Gallinarum* nas aves são as fezes, a urina e o ovo/embrião.

8.1.3 Vias de transmissão

As vias de transmissão das salmonelas tíficas são diversas, mas todas passam pelo contato de aves doentes para aves suscetíveis. Geralmente é o homem o elo de ligação, mas podem ser objetos inanimados/fômites, equipamentos, veículos (contágio indireto). O alimento também pode estar envolvido na transmissão, principalmente dentro do lote. Importante também é a transmissão transovariana, que ocorre permanentemente quando a reprodutora está infectada. Sanitização, contato e biossegurança são chaves para cortar as cadeias de transmissão.

8.1.4 Porta de entrada

A grande porta de entrada é a via oral. No caso de inseminação, a via reprodutiva também pode permitir a infecção, embora na prática seja pouco frequente.

8.1.5 Suscetibilidade

Entre as aves domésticas, as galinhas são as mais suscetíveis; depois, os perus; e, com menos frequência, faisões, galinhas-d'angola, codornas, papagaios e pardais. Aves silvestres agem mais como carreadores. Tanto aves jovens como adultas são igualmente suscetíveis; porém, as consequências da doença são maiores em aves adultas. A suscetibilidade das galinhas de corte é maior que as de postura comercial, e, dentro da postura comercial, as aves marrons são mais suscetíveis que as brancas.

8.2 Profilaxia

8.2.1 Tratamento

A *S. Gallinarum* é sensível à grande maioria dos antibióticos e quimioterápicos utilizados na avicultura. O uso adequado pode reduzir a morbidade e mortalidade e restabelecer a produção. Da mesma forma que para a *S. Pullorum*, os mais empregados são sulfas, sulfatrimetoprim, apramicina, fosfomicina, quinolonas e tetraciclina. O ceftiofur e a gentamicina também podem ser usados em aves de 1 dia de idade no incubatório ou na transferência (18º dia de desenvolvimento embrionário). É igualmente importante considerar que nenhum tratamento elimina totalmente a bactéria, pois as aves tratadas permanecem portadoras, eliminando a salmonela no meio ambiente. O tratamento com antibióticos reduz a intensidade da manifestação clínica, que varia de branda a ausência de sinais, e também pode interferir nas possibilidades de isolamento bacteriano e na sorologia.

Pelo fato de a pulorose e o tifo aviário serem doenças de notificação e sacrifício obrigatórios, de acordo com as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, não se recomenda efetuar o tratamento dos lotes até a realização dos exames laboratoriais (sorologia e bacteriologia) para a certificação do diagnóstico. Tratamento intensivo e periódico com antibióticos de aves positivas pode reduzir a frequência de aves com manifestação clínica, mas ao mesmo tempo diminuir a quantidade de anticorpos circulantes, a ponto de não serem detectados pelo SAR e permanecerem como portadoras.

8.2.2 Controle e prevenção

O controle das doenças causadas pelas *S. Gallinarum* e pela *S. Pullorum*, principais patógenos de interesse para a indústria avícola, foi alcançado em muitos países pela introdução de medidas de profilaxia seguida de vigorosas ações de vigilância epidemiológica e erradicação. O uso combinado de biossegurança, exames sorológicos estratégicos (programados) e sacrifício compulsório de plantéis infectados tem sido a chave para o controle e prevenção das salmoneloses tíficas. Apesar desses esforços, o tifo aviário e a pulorose persistem entre os principais problemas sanitários em muitos países, mas principalmente por falhas de implementação e continuidade do programa.

Conforme a legislação brasileira para as salmonelas tíficas, não existem vacinas aprovadas para reprodutoras de corte. Apenas matrizes podem ser vacinadas contra a *S. Enteritidis*, que, por ser do mesmo grupo (D), há proteção cruzada parcial. Em galinhas de postura comercial é permitido o uso de vacina inativada e vacina viva cepa 9R.

O controle e a prevenção também se estabelecem com o planejamento da criação. Devem-se criar aves em idade única e somente de origem conhecida, e não misturar espécies e praticar limpeza e desinfecção entre lotes.

Havendo a detecção da *S. Gallinarum*, a granja/propriedade deve ser imediatamente isolada para que medidas de erradicação sejam estabelecidas. É importante o controle do fluxo de pessoas e veículos, e as aves positivas devem ser eliminadas. Cuidados com limpeza, lavagem e desinfecção das instalações e equipamentos devem ser rigorosos. A cama deve ser amontoada para fermentação, visando à destruição de salmonelas e outros agentes, enterrada ou incinerada.

O processo de erradicação para as salmonelas tíficas, embora drástico, tem se mostrado como a melhor alternativa para uma avicultura comercialmente competitiva. Ele atende aos objetivos econômicos e de legislação da grande maioria dos países, até mesmo do Brasil.

Salmonelas paratíficas

1 Conceituação

O termo "paratifo aviário" (PA) tem sido usado para indicar a infecção causada por bactérias do gênero *Salmonella*, espécie *enterica*, subespécie *enterica*, exceto *S. Arizonae*, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, que causam arizonose, pulorose e tifo aviário, respectivamente. Muitas vezes as infecções paratíficas também são denominadas simplesmente "salmonelose". A principal característica do paratifo é a possibilidade de um grande número de salmonelas (sorotipos) estarem envolvidas e a ausência de sinais clínicos ou lesões nas aves. O seu reconhecimento ocorreu ainda no final do século XIX. Até os anos 1970, a atenção estava toda voltada para o controle das salmonelas tíficas (pulorose e tifo) devido às perdas econômicas que provocavam nas criações de aves comerciais. Porém, com seu controle, a preocupação voltou-se para as salmonelas paratíficas. Estas ganharam nova atenção a partir dos anos 1970 e 1980, quando ficou evidente que as aves (carnes, ovos e derivados) são as principais fontes de infecção para o homem. Hoje, a infecção está disseminada por toda a criação de aves industrial e também em aves silvestres. Pelas características epidemiológicas das salmonelas e pelo sistema intensivo de criação, é pouco provável erradicá-las dos criatórios avícolas. Porém, é possível mantê-las em frequência bastante baixa, diminuindo significativamente os riscos de contaminação ao homem.

2 Etiologia

O paratifo aviário tem como etiologia uma variedade muito grande de salmonelas. Em princípio, pode ser qualquer um dos mais de 1.500 sorotipos que pertencem ao gênero *Salmonella*, espécie *enterica*, subespécie *enterica*. É importante destacar que, apesar dessa grande variedade de sorotipos, cerca de 200 foram isolados de aves.

Os levantamentos epidemiológicos mostram, em diferentes partes do mundo, que geralmente os dez sorotipos mais prevalentes representam de 80% a 90% dos isolamentos. A predominância e o tipo dos sorovares variam conforme a espécie de ave, época do ano, país e região dentro do mesmo país. No Brasil, alguns dos sorovares mais comumente encontrados em aves são: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Agona*, *S. Mbandaka*, *S. Senftenberg* e *S. Schwarzengrund*. Estes variam com a região e com o tempo.

2.1 O agente e suas características morfológicas

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*. São bactérias gram-negativas, de forma cocobacilar, imóvel, anaeróbia facultativa, não formadora de esporos e bastante adaptada às aves. Apresentam antígenos somáticos (O) e flagelares (H), que permitem classificá-las nos mais de 2.500 sorotipos. Ver parte introdutória deste capítulo para mais detalhes de classificação, isolamento e identificação.

2.1.1 Características de importância epidemiológica

- **Patogenicidade e virulência:** entre as salmonelas paratíficas, a *S. Enteritidis* e ocasionalmente a *S. Typhimurium* são consideradas as mais patogênicas e virulentas. Em experimentos com diferentes doses e fagotipos, fica evidente a variação na morbidade, a gravidade dos sinais clínicos e a mortalidade em pintos (linhagem de corte). Porém, em infecções de campo, as evidências de doença clínica são escassas. Na vasta maioria dos lotes positivos não há comprometimento da performance, nem sinais de enfermidade.
- **Imunogenicidade:** estudos experimentais com a *S. Enteritidis* em aves de postura mostraram o desenvolvimento de anticorpos (IgG) contra lipopolissacarídeos detectados por técnicas como ELISA e de imunoblotting. No soro sanguíneo foram detectadas, por volta de uma semana decorrido da infecção, imunoglobulinas de natureza IgM, IgA e IgG dirigidas para os lipopolissacarídeos, flagelo e membrana externa, com picos de anticorpos observados às 3, 4 e 5 semanas para cada imunoglobulina mencionada. Nas infecções mais antigas está presente apenas IgG, que pode ser detectada por até nove meses da primeira infecção.

A imunidade para salmonelas paratíficas tem relação com a idade das aves. Aves jovens resistem menos à infecção. A capacidade de invasão e a duração da infecção tendem a ser menores em aves adultas em relação às jovens, estando relacionada com a maturidade do sistema imune. Havendo a infecção, o sistema de defesa geral é ativado. Ocorrem fagocitose, produção de interleucinas e anticorpos, porém nem sempre há eliminação completa do agente. Num plantel infectado, elevada proporção de aves responde com a produção de anticorpos (IgA, IgM e IgG) e cessa a infecção, mas ao mesmo tempo encontram-se aves que permanecem positivas e infectadas, as denominadas "portadoras sãs". O mecanismo que a salmonela utiliza para se proteger da ação do sistema imune não é conhecido. Especula-se que ela se refugia no interior de macrófagos, como sucede com a maioria dos parasitos intracelulares facultativos, mas é um fenômeno que necessita ser confirmado. Embora a infecção por salmonela paratífica estimule boa resposta imune humoral com anticorpos circulantes, estes por si só não garantem ave livre e protegida da infecção. A imunidade mediada por célula é tão ou mais importante que a humoral para o controle da infecção.

- **Resistência:** as salmonelas têm a capacidade de sobreviver e multiplicar-se fora do organismo de seu hospedeiro e essas características devem nortear as medidas de profilaxia. A resistência da *S. Typhimurium* em condições naturais é favorecida pela temperatura ambiente, matéria seca, pH e microflora. Ambientes secos são mais favoráveis para a sobrevivência de salmonelas, exceto quando extremamente desidratados. É bastante sensível ao calor, inativada em 5 minutos a 60°C. Não resiste a fermentação quando a temperatura passa de 50°C. É rapidamente destruída pela fervura e peletização (80°C por menos de um minuto). Também é sensível à pasteurização.
- **Água:** atua como protetor e disseminador das salmonelas quando não atingida por luz solar ou desinfetante, situação comum no interior dos galpões.
- **Cama em uso:** parece inibir a bactéria, muito provavelmente devido ao aumento da concentração de amônia e alteração de pH.

- **Ração:** apesar da baixa umidade das rações, foi observado que a *S. Typhimurium* sobreviveu por até 16 meses. Algumas experiências com ácidos orgânicos misturados com ração mostram capacidade de reduzir contaminação por salmonelas. As contaminações podem ter origem por contato com fezes de roedores ou por incorporações de produtos de origem animal, como farinhas.
- **Atividade de água:** as salmonelas são sensíveis à baixa atividade da água, mas nas condições de aviários ela não atinge níveis críticos a ponto de inibir o desenvolvimento. Por isso, o isolamento torna-se relativamente fácil a partir de suaves de arrasto e da cama. É menos frequente nas rações pela baixa umidade.
- **Desinfetantes:** as salmonelas em geral são sensíveis aos desinfetantes e às substâncias químicas utilizadas na descontaminação. No caso de carcaças, podem ser utilizados peróxido de hidrogênio, ácido acético, ácido láctico, sorbato de potássio, cloro ou fosfato trissódico. Para instalações e ovos, amônia, fenóis, cloro, peróxido de hidrogênio e formalina, quando possível.

3 Distribuição geográfica e prevalência

As salmonelas se distribuem pelo mundo todo e se encontram mais frequentemente nas regiões de intensa avicultura industrial. As salmonelas paratíficas podem ser isoladas de roedores, mamíferos, répteis, insetos, homem e, principalmente, aves. Elas estão amplamente disseminadas na população animal, sendo comum encontrá-las em condições naturais, em rebanhos infectados por um ou mais sorovar. Portanto, as fontes de infecção podem ser diversas, o que dificulta a elaboração de programas de controle.

Existe uma boa relação entre os sorotipos de salmonelas encontrados em aves e aqueles que causam infecção no homem. Há evidências muito claras de que isso está associado ao consumo de carne, ovos e derivados contaminados. Muitos levantamentos epidemiológicos num determinado país ou região mostram que, entre os dez sorotipos mais prevalentes em aves comparados com os dez mais prevalentes no homem, a metade é comum. Levantamento realizado nos países da Comunidade Europeia em 2005 e 2006, baseado em exames de fezes de frangos colhidas três semanas antes

do abate, revelou prevalência e incidência variáveis entre países. Hungria, Polônia e Espanha apresentaram ao redor de 50% de positividade. Por outro lado, em países nórdicos, como Noruega, Suécia e Dinamarca, a positividade aproxima-se de zero. Políticas agressivas de controle de salmonelas associadas às condições de baixa densidade animal, como são as dos países nórdicos, podem contribuir de maneira significativa para a baixa prevalência. O Brasil possui um amplo programa de controle de salmonela e mesmo possuindo um plantel incomparavelmente maior, a prevalência média estimada é bem menor que da UE. A maioria dos sorotipos encontrados em aves também infecta humanos, principalmente a *S. Enteritidis* e a *S. Typhimurium*.

4 Importância econômica e de saúde pública

A importância econômica das salmonelas paratíficas não está relacionada à mortalidade ou à perda de performance em caso de infecção. O grande impacto está na possibilidade de que ovos, carne e derivados sejam fonte de infecção para o homem. Somas expressivas são investidas na prevenção através de cuidados de biossegurança e tratamento. Para a maioria das empresas, após a coccidiose, os maiores gastos são feitos com salmonelas e praticamente tudo em prevenção.

Em humanos, as salmonelas estão entre as principais causas de toxi-infecções de origem alimentar, as quais representam uma das grandes preocupações de saúde pública e têm implicância com avicultura. O ovo é fonte de infecção mais frequente que carnes e derivados, mas todos preocupam. Nas últimas duas décadas tem ocorrido um aumento significativo de casos em humanos por *S. Enteritidis* (SE) nos Estados Unidos, na Europa e em outras partes do mundo, até mesmo no Brasil. Mais recentemente observa-se uma redução, mas ainda causam preocupação. As observações epidemiológicas têm revelado uma relação direta com consumo de alimentos que contêm ovo ou seus derivados. Da mesma forma que a SE, a *S. Typhimurium* tem sido incriminada por episódios de toxi-infecções de origem alimentar em humanos. Os idosos, crianças e imunossuprimidos são os mais vulneráveis à infecção.

5 Hospedeiros

As salmonelas paratíficas se abrigam numa variedade muito grande de hospedeiros. Praticamente todos os animais, tanto domésticos como selvagens, são suscetíveis a elas e podem transmiti-las. Roedores, principalmente ratos, são hospedeiros de salmonelas e grandes disseminadores. Todos os animais eliminam salmonelas pelas fezes. As aves são infectadas por mais de uma centena de sorotipos. As recém-nascidas são mais suscetíveis que as adultas, cuja resistência se instala na medida em que a flora bacteriana intestinal se desenvolve e está associada à maturação do sistema imune. Aves adultas raramente apresentam sinais clínicos da infecção por salmonelas paratíficas, mesmo que ocorra colonização e invasão sistêmica. Da mesma forma, aves de fundo de quintal podem estar infectadas sem manifestar nenhum sinal. Estas, juntamente com roedores, são consideradas os grandes reservatórios naturais de salmonelas.

6 Fatores predisponentes

Os fatores predisponentes são vários, entre os quais, os mais importantes são: presença de roedores nas instalações; acesso e contato com animais silvestres no lote; aves de reposição contaminadas; biossegurança deficiente da granja; proximidade com galinhas de fundo de quintal ou de criações informais; rações com produtos de origem animal não descontaminados; presença de outras aves e mamíferos na propriedade; criação de múltiplas idades na mesma granja e em granjas de livre acesso. A idade das aves também é um fator predisponente já que aves jovens são mais suscetíveis que as adultas. Plantéis com população muito grande facilitam o aparecimento de salmonelose.

7 Patogenia e mortalidade

Na grande maioria dos casos de salmonelas paratíficas não há manifestação de sinais clínicos nem alterações anatomopatológicas, pode-se considerar como uma infecção assintomática. Ocasionalmente são observados sinais e alterações, principalmente em aves jovens. A porta de entrada principal é a via oral, que geralmente está associada à ingestão de alimento ou água contaminada. A infecção

também pode ocorrer no incubatório por contato com ovos infectados de bactéria. Nesse caso pode haver contaminação por ingestão ou por aerossol. Após a ingestão, alguns sorotipos se multiplicam e permanecem apenas no intestino. Há sorotipos como Enteritidis e Typhimurium que são invasivos e atingem órgãos internos como fígado e baço, os quais tendem a ser mais patogênicos. A mortalidade geralmente é baixa ou inexistente. Alguns casos podem chegar entre 5% e 10%, mas com frequência estão associados a problemas de manejo, ambiência ou outras enfermidades.

Participam da patogenia três categorias gerais de toxinas. Uma endotoxina está associada à porção lipídica A do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular bacteriana. Quando liberada na corrente circulatória de um animal infectado, por lise bacteriana, pode provocar febre. Lipopolissacarídeos também contribuem para a resistência da parede bacteriana ao ataque e digestão pelos fagócitos do hospedeiro. Há evidências de que a *S. Typhimurium* perdeu a habilidade de sintetizar LPS completa e esse fato tem sido associado à habilidade ímpar de colonizar o ceco e invadir o baço de pintinhos. Duas toxinas de origem proteica foram identificadas em salmonelas: uma delas é a enterotoxina, que induz resposta secretória pelas células epiteliais, resultando em acúmulo de fluido no lúmen intestinal. Ela é termo lábil e foi detectada em muitas estirpes de *S. Typhimurium* de origem animal. Em condições de laboratório, foi observado que mutantes deficientes em enterotoxina causam menos danos em células da mucosa intestinal e a letalidade era menor em camundongos. A outra é uma citotoxina, também termo lábil, que danifica células epiteliais do intestino e provavelmente inibe a síntese de proteína.

7.1 Aderência, capacidade invasiva e sobrevivência intracelular

A aderência das salmonelas paratíficas às células epiteliais do intestino é a primeira etapa da sequência de eventos que produz a infecção. Estirpes de reduzida habilidade de colonizar o trato intestinal de pintinhos revelam baixa patogenicidade. Mutantes da *S. Enteritidis* desprovidas de fímbrias mostram reduzida capacidade

de aderência e não são capazes de competir com estirpes selvagens para colonização e são isoladas em menor proporção. Essa não é uma observação unânime entre os pesquisadores, embora a patogenicidade seja diretamente dependente da capacidade de invasão da bactéria.

Aderência e capacidade de invasão indicam serem atividades reguladas em separado, embora elas ocorram simultaneamente. A replicação de salmonelas no interior de células do hospedeiro também indica ser essencial para a expressão da patogenicidade, pois o crescimento e a destruição bacteriana ocorrem simultaneamente no interior do macrófago. Salmonelas que resistem depois da fusão fagossoma-lisossoma no interior do macrófago destroem o próprio macrófago.

7.1.1 Plasmídeos

São elementos de DNA extracromossomos que estão sempre relacionados à virulência, e não à patogenicidade, das salmonelas. Estirpes de *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* desprovidos de plasmídeos associados à virulência têm revelado menor capacidade letal em condições experimentais, e o inverso nem sempre ocorre. Patogenicidade e virulência de salmonelas variam de acordo com o sorotipo envolvido.

7.2 Diagnóstico

7.2.1 Diagnóstico presuntivo

Embora alguns sinais clínicos mencionados em diagnóstico clínico possam servir de base para o diagnóstico presuntivo, deve ser considerado que na grande maioria das vezes as infecções são subclínicas e não apresentam sinais. Portanto, o fundamento do diagnóstico tem que ser feito com base na monitoria, e não a partir de evidência clínica. O diagnóstico confirmativo é feito mediante o isolamento e identificação da salmonela por cultivo das amostras. (Para mais detalhes a respeito do material a ser coletado, técnicas de diagnóstico e interpretação, ver "Isolamento e identificação de salmonelas", na

página 124 deste livro.) Nos casos de infecção subclínica, o ceco e as tonsilas cecais são os tecidos de eleição para o isolamento de salmonela. Caso a amostra seja invasiva, deve-se incluir também fígado e baço. Recomenda-se sorotipificar as amostras isoladas para fins de avaliação epidemiológica e, principalmente, para descobrir a fonte de infecção. A salmonela é uma bactéria relativamente fácil de ser isolada; as grandes limitantes são o baixo número e a eliminação intermitente, o que pode gerar resultados falso-negativos. Repetir a análise ou usar uma amostragem maior são alternativas para diminuir a possibilidade de erro.

7.2.2 Diagnóstico clínico

Na grande maioria das infecções por salmonelas paratíficas não se observam sinais clínicos. Quando a infecção ocorre em aves adultas, a possibilidade é ainda menor. No caso de infecção em aves jovens (menos de 2 semanas de idade), as chances de alguma manifestação clínica são maiores. Em infecção imediatamente após o nascimento ou durante a incubação (via vertical), a mortalidade geralmente ocorre até as três primeiras semanas de vida e é mais elevada em patos e perus que em galinhas. A partir da quarta semana, os sinais clínicos e a mortalidade tendem a desaparecer. Os principais sinais clínicos são: sonolência, diarreia, desidratação, redução do consumo, desuniformidade, empastamento da cloaca, piados e amontoamento próximo da fonte de calor. Ocasionalmente, pode ocorrer dificuldade de locomoção por artrite. Os casos de maior mortalidade geralmente estão associados à *S. Typhimurium* e à *S. Enteritidis*, mas a manifestação clínica da doença pode ocorrer com inúmeros outros sorotipos. A mortalidade é variável e raramente ultrapassa 10%. A morbidade tende a ser baixa, a doença parece não acometer de forma generalizada o lote. Dentro do mesmo sorotipo existem amostras mais patogênicas que outras. Isso foi evidenciado com a *S. Enteritidis* fagotipo 4, sendo este mais agressivo do que outros fagotipos, embora alguns deles não tenham manifestado patogenicidade. Outra constatação importante é que amostras mais invasivas tendem a produzir mais sinais da infecção que as menos invasivas.

Caso de salmonelose paratífica. Galinhas (ao lado) e frangos (abaixo) aparentemente normais e com bom desenvolvimento.



FOTOS: CORNELL UNIV. COLLEGE OF VET. MED.

7.2.3 Diagnóstico anatomopatológico

A infecção em aves adultas quase sempre ocorre sem a manifestação de lesões. No caso de aves jovens que nascem infectadas e em que ocorre septicemia, podem-se observar fígado, baço e rins levemente hipertrofiados e congestos. O fígado pode apresentar áreas puntiformes esbranquiçadas, reveladoras de focos de necrose. Podem-se observar também desidratação, enterite necrótica e tífite com tecido necrosado na luz do ceco. Nos casos de infecção severa por salmonela é comum ocorrerem má absorção da gema e onfalite. Ocasionalmente se observam pericardite e peri-hepatite.

O pulmão pode apresentar alteração de coloração e lesões do tipo necrótico. Nenhuma das lesões apresentadas são específicas de salmonelas – elas podem se confundir com outras enfermidades bacterianas e virais.

As lesões microscópicas geralmente estão ausentes quando a infecção ocorre em aves adultas. Há descrição de uma reação inflamatória branda com infiltração focal/difusa leve de heterófilos no oviduto e ovário em surto natural da *S. Enteritidis*. Aves infectadas na primeira semana de vida podem apresentar necrose focal na mucosa do intestino, e principalmente no ceco se observa acúmulo de tecido necrosado. Além disso, podem ocorrer pericardite, peri-hepatite purulenta e necrose focal no fígado e no baço. Ocasionalmente podem-se notar artrite purulenta e aerossaculite. Edema de pálpebra e artrite também podem ser observados, porém são mais comuns em pombos.

7.2.4 Diagnóstico laboratorial direto

O diagnóstico laboratorial direto mais comumente usado é o isolamento via provas bioquímicas e confirmação sorológica. (Quanto às amostras a serem coletadas e procedimentos laboratoriais, ver parte introdutória deste capítulo.) Por questão de custo, um erro comum é a subamostragem. Não podemos esquecer que as salmonelas se transmitem intermitentemente e em baixo número. Portanto, o número de amostras que devem ser examinadas para se alcançar o nível de confiança estabelecido para a detecção de salmonelose paratíficas em um plantel é diretamente relacionado ao tamanho do plantel e inversamente proporcional à prevalência estimada. Plantéis de grande tamanho com baixa prevalência exigem proporcionalmente número maior de amostras. Devemos ter cuidado com *pool*, porque a salmonela em baixo número pode ser exageradamente diluída e resultar no isolamento negativo. Uma vantagem do isolamento é que, sendo positivo, pode-se fazer a sorotipificação. Com a determinação do sorotipo, é possível fazer estudos epidemiológicos e de rastreabilidade.

O diagnóstico laboratorial direto também pode ser feito via *kit* com sondas moleculares, reações tipo ELISA de captura, PCR e, em futuro próximo, sequenciamento.

7.2.5 Diagnóstico laboratorial indireto

O diagnóstico indireto é feito com base na detecção de anticorpos. Para isso utilizam-se os testes de soro e hemaglutinação em placa, soroaglutinação em tubos, microaglutinação e ELISA. As limitantes dessas técnicas é que elas não estão disponíveis para a vasta maioria das salmonelas, pois tendem a ser sorotipos específicos. Ademais, uma infecção subclínica pode estar restrita ao intestino e por tempo relativamente curto. Nesse caso pode não haver a indução de resposta de anticorpos detectáveis pelos testes sorológicos; portanto, um resultado sorológico negativo não necessariamente significa ausência da salmonela.

8 Epidemiologia

As possibilidades de infecção por salmonelas paratíficas são várias e podem ocorrer de diferentes formas; porém, a mais comum é a via oral. A contaminação poderá vir pelo alimento ou estar no ambiente e haver a ingestão. Transmissão via aerossol tem sido demonstrada e ocorre principalmente no incubatório. Grande número de aves e proximidade entre elas favorecem essa ocorrência. A contaminação fecal da casca dos ovos na granja pode ser fonte de entrada e disseminação no incubatório. Uma vez ingerida, a salmonela localiza-se no papo, atinge o intestino e é eliminada pelas fezes. A contaminação também pode ocorrer via cloaca e até pela conjuntiva ocular. Aves infectadas podem se tornar portadoras com eliminação fecal e de forma intermitente. As tonsilas cecais é o local do intestino em que mais frequentemente a salmonela pode ser recuperada. Com alguns sorotipos, a infecção fica restrita ao trato intestinal e à eliminação pelas fezes. Há sorotipos mais invasivos, como a *S. Enteritidis*, a *S. Heidelberg*, a *S. Infantis* e a *S. Typhimurium*. Estas podem produzir infecção sistêmica, passam do intestino e colonizam outros órgãos, como fígado, vesícula biliar, baço, coração, ovário e oviduto. Quando a bactéria coloniza o aparelho reprodutor, pode haver transmissão via ovo. Porém, entre as salmonelas paratíficas a transmissão vertical geralmente não ocorre e, quando isso se verifica, é esporádica e em baixo número.

Aves adultas dificilmente manifestam sinais clínicos, mesmo quando apresentam colonização bacteriana nos órgãos internos. Porém, em condições experimentais foi demonstrado que cepas de *S. Enteritidis* fagótipo 4 produziram queda de produção de ovos, diarreia e até mortalidade. A infecção em aves jovens pode induzir o aparecimento de sinais clínicos, resultando na eliminação da salmonela pelas fezes por períodos bastante longos. Tanto a colonização intestinal como a invasibilidade tendem a ser maiores quando a infecção ocorre em aves jovens. Além disso, a quantidade de bactérias viáveis para estabelecer a infecção é bem menor para aves jovens do que para as adultas. Quando inoculados via oral com 1.000 ufc (1×10^3 ufc) no primeiro dia em pintos e perus, 50% deles se tornam positivos. Essa mesma dose administrada para aves adultas pode não causar a infecção, ou no máximo tornar 5% das aves positivas.

Ocasionalmente as salmonelas paratíficas podem ser detectadas no intestino sem estar causando infecção – é o que se denomina "salmonela de trânsito". A bactéria é eliminada normalmente pelas fezes, mas em baixa quantidade, pela pouca replicação. Nesse caso o lote pode estar positivo no campo e não ser detectada a salmonela no abatedouro. Lotes positivos que produzem ovos apresentam taxa muito baixa de transmissão, na maioria das vezes menores de 1%. Uma investigação mostrou que a percentagem de positivos era de 0,002% (2 ovos positivos em 10.000 produzidos). Logo após a infecção a taxa de transmissão tende a ser maior, mas diminui com o tempo.

Pelo fato de as salmonelas estarem presentes em várias espécies animais e se transmitirem com facilidade entre elas torna difícil o controle e praticamente impossível sua erradicação. Produtos de origem animal, quando incorporados nas rações, têm sido uma das principais fontes de contaminação por salmonela.

Apesar de as salmonelas paratíficas terem potencial de causar mortalidade principalmente em aves jovens, a ocorrência de infecção subclínica é mais preocupante do ponto de vista de saúde pública do que de saúde das próprias aves. As aves, principalmente galinhas e perus, são as principais fontes de infecção de salmonela para o homem. A infecção geralmente é adquirida pelo consumo de carnes, ovos e produtos contaminados.

8.1 Profilaxia

8.1.1 Tratamento

Na presença de sinais clínicos e de mortalidade, as salmonelas tendem a responder bem quando tratadas com antibiótico, principalmente em aves jovens. Porém, as aves permanecem infectadas e, após a suspensão do tratamento, pode ocorrer eliminação da bactéria. Em algumas ocasiões os antibióticos parecem não fazer efeito e favorecem a permanência da salmonela, possivelmente devido a um desequilíbrio da flora intestinal. A medicação pode ser ministrada por via parenteral com 1 dia de idade ou aplicado via água ou ração. Os antibióticos mais usados são as sulfas, sulfa-trimetoprim, cefalosporinas, quinolonas e tetraciclina. O ceftiofur e a gentamicina têm sido largamente usados com 1 dia de idade no incubatório ou na transferência (18^o dia de desenvolvimento embrionário). Os resultados têm sido muito bons para o controle de salmonela e outros patógenos.

8.1.2 Controle e prevenção

A prevenção de salmonelas paratíficas está diretamente relacionada à adoção de medidas rigorosas de biossegurança. O importante é que elas devem envolver toda a cadeia. Isso se faz necessário porque as portas de entrada são muitas. A origem da contaminação pode estar na reprodutora, no alimento, no incubatório, no ambiente de criação (aviário) e no frigorífico. Em cada um desses setores há necessidade de um programa de controle e uma análise interativa entre eles. Apesar de a transmissão vertical das salmonelas paratíficas ocorrer apenas esporadicamente, o ovo ainda é uma das principais fontes de disseminação, em particular para a *S. Enteritidis* e a *S. Typhimurium*. O contato da casca com a cama ou ninhos contaminados com matéria fecal que contém salmonela é uma das principais portas de contaminação. Por esse motivo é importante efetuar uma desinfecção adequada dos ovos ainda na granja. Ovos de consumo devem ser refrigerados o mais rápido possível para inibir a multiplicação das salmonelas que eventualmente estiverem na superfície. A higiene e a desinfecção do incubatório devem ser rigorosas. Em caso de altos desafios, os ovos devem ser sanitizados, não somente na granja, mas também antes da incubação.

Tanto animais domésticos como silvestres, principalmente aves e roedores, podem ser fontes de infecção para aves comerciais. Granjas positivas, quando depopuladas, devem ser lavadas, desinfetadas e permanecer pelo menos três semanas de vazio sanitário. Tanto avós como matrizes e aves comerciais podem e devem ser monitorados para a presença de salmonela. Dados de prevalência que permitam a rastreabilidade fazem parte dos fundamentos para o controle das salmonelas. As rações também necessitam ser monitoradas, pois podem ser fonte importante de contaminação. Sempre que possível, deve-se evitar o uso de subprodutos de origem animal, como farinhas (carne, sangue, ossos, penas e vísceras), na alimentação, pois elas têm sido uma das fontes mais comuns de contaminação.

A peletização, a inclusão de ácidos orgânicos e o formaldeído podem eliminar ou diminuir significativamente o número de salmonelas das rações e das matérias-primas. Roedores, quando não controlados e presentes nos aviários, podem ser fontes de contaminação e persistência de salmonelas na granja.

O uso de flora bacteriana ou probióticos no primeiro dia, com o intuito de estabelecer uma exclusão competitiva, impedindo a colonização por salmonela, tem sido uma prática comum. Eles também podem ser usados após tratamento com antibiótico, como auxílio para restabelecimento da flora normal. Para fins preventivos, existe a possibilidade de uso das bacterinas, principalmente para matrizes de corte e galinhas de postura comercial. Esta tem sido frequentemente usada para *S. Enteritidis*, porém apresenta uma limitante: não é possível diferenciar os anticorpos de origem vacinal dos anticorpos de infecção de campo, e isso interfere na monitoria sorológica oficial. Outra limitante, ainda maior, é o fato de a imunidade vacinal não induzir proteção cruzada entre os diferentes sorotipos, por exemplo, vacina contra *S. Enteritidis* não protege contra *S. Typhimurium*, e vice-versa. Vacinas deletadas, modificadas e recombinantes estão sendo desenvolvidas, algumas das quais já em testes finais.

No Brasil, existem disponíveis vacinas vivas e mortas contra salmonela. A maioria está direcionada para o grupo D, que inclui *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* e *S. Enteritidis*. As vacinas vivas estimulam a

imunidade local, sendo mais eficientes para prevenir a entrada da salmonela pela mucosa oral/digestiva. As vacinas mortas estimulam a imunidade circulante, atuando melhor no controle da invasibilidade da salmonela para a corrente sanguínea. Além disso, no caso de vacinas mortas, a IgG é transferida à progênie e tem papel importante na prevenção da infecção nos primeiros dias, período em que a ave é mais sensível. Pelo fato de os anticorpos serem específicos para cada sorotipo e o paratifo poder ser causado por centenas deles, não existem no mercado testes sorológicos. O seu desenvolvimento é possível, mas o número não o torna prático. A única exceção é para a *S. Enteritidis*, que, por ser do mesmo grupo da *S. Gallinarum* e da *S. Pullorum* (grupo D), o teste de soroaglutinação rápida (SAR) apresenta reação cruzada e pode ser usado. Porém, em caso de resultado positivo, não é possível distinguir qual delas é a causa da infecção.

9 Considerações sobre *S. Enteritidis*

Dentro do universo das mais de 2.500 salmonelas paratíficas, a *S. Enteritidis* ocupa um lugar de destaque. Além de ter o potencial de causar doença e mortalidade em aves jovens, é considerada uma das salmonelas paratíficas mais patogênicas para o homem. É a principal causa de toxi-infecção alimentar em várias partes do mundo. A passagem das aves para o homem se dá principalmente pelo consumo de carne e ovos contaminados. A partir de meados da década de 1980 na Europa e desde a década de 1990 no Brasil a *S. Enteritidis* tornou-se um dos sorotipos mais prevalentes em aves de corte e de postura; até então era praticamente ausente. No início deste novo século, apesar de uma aparente redução da *S. Enteritidis*, provavelmente resultado da vacinação em massa das matrizes de corte, ela ainda continua prevalente no Brasil. Patos também podem se infectar facilmente com a *S. Enteritidis*, porém perus são mais resistentes. Entre os vários fagótipos de *S. Enteritidis* existentes, o fagótipo 4 é o predominante em aves e considerado um dos mais patogênicos para o homem, apesar de existir variação de patogenicidade entre diferentes amostras do fagótipo 4. A infecção em aves jovens pode causar mortalidade e sinais clínicos, já descritos anteriormente. Em aves adultas, na maioria das vezes, a infecção é

inaparente, mas algumas amostras de *S. Enteritidis* podem causar anorexia, diarreia e redução da produção de ovos. Apesar de a transmissão vertical da *S. Enteritidis* não ter sido demonstrada de maneira clássica, observações de campo confirmam que ela ocorre, mas em número bastante baixo. Pelo fato de a taxa de transmissão ser muito baixa, muitas vezes a infecção não pode ser detectada durante o crescimento das aves e esta se manifesta por ocasião de estresses, principalmente os relacionados à postura.

Uma vez que o lote esteja infectado é muito difícil erradicar a *S. Enteritidis*, e a ave permanece eliminando para o resto da vida. Algum sucesso foi obtido através do tratamento de lotes positivos com antibióticos como fluoroquinolona por dez dias. No final do tratamento as aves devem ser transferidas para um ambiente livre e administrada flora bacteriana por dois a três dias. Em várias partes do mundo, mesmo no Brasil, após a introdução da bacterina oleosa em matrizes, tem se observado uma queda significativa da taxa de infecção.

As medidas de controle para a *S. Enteritidis* basicamente são as mesmas das salmonelas paratíficas. Cuidados adicionais devem ser tomados pelo fato de alguns ovos carream a bactéria para dentro do incubatório. Um ovo positivo pode ser fonte de infecção para centenas ou milhares de pintinhos por ocasião do nascimento. É muito importante manter os lotes livres da infecção. O sistema de biossegurança e a monitoria devem ser bastante rigorosos: o primeiro, para prevenir o estabelecimento da infecção, e o segundo, para identificar lotes que eventualmente tornam-se positivos. Pelo fato de a *S. Enteritidis* pertencer ao grupo somático D, do qual também fazem parte a *S. Pullorum* e a *S. Gallinarum*, as provas sorológicas usadas no programa de controle e monitoria dessas salmonelas também detectam infecção para a *S. Enteritidis*.

Legislação

Assim como a grande maioria dos países com avicultura industrial organizada, o Brasil também possui legislação sobre o controle e monitoramento para salmonela. Temos a Instrução Normativa MAPA nº 78, de 3 de novembro de 2003, que estabelece as normas técnicas para controle e certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas como livres de *Salmonella Gallinarum* e de *Salmonella Pullorum* e livres ou controlados para *Salmonella Enteritidis* e para *Salmonella Typhimurium*.

1. Condições para certificação

Essas normas definem as medidas de monitoramento das salmoneloses em estabelecimentos avícolas de controles permanentes e eventuais (exceto postura comercial, frango de corte e ratitas), que realizam o comércio ou a transferência nacional e internacional de seus produtos, destinados à reprodução e à produção de aves e ovos férteis, ficando os mesmos obrigados a realizarem o monitoramento de seus plantéis, obedecendo às diretrizes do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA).

- 1.1. Para proceder ao comércio nacional e internacional e à transferência, no âmbito nacional, de seus produtos, o núcleo ou estabelecimento avícola deverá estar certificado como livre de *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum* e livre ou controlado para *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*.
- 1.2. Os núcleos dos estabelecimentos de linhas puras, bisavoseiros e avoseiros deverão apresentar-se livres das quatro salmonelas.
- 1.3. Os núcleos dos estabelecimentos matrizeiros deverão ter a condição de livres de *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum* e livres e/ou controlados para *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*.
- 1.4. Os estabelecimentos importadores ou compradores de material genético de linhas puras, bisavós e avós deverão obter previamente a garantia ou a certificação de origem de livres para as salmonelas constantes destas normas.

2. O estabelecimento avícola de controle permanente não poderá utilizar:

- 2.1. Vacina de qualquer natureza contra as salmoneloses, em estabelecimentos de controles permanentes, exceto o previsto no capítulo IV desta norma.
- 2.2. Qualquer vacina preparada com adjuvante oleoso, durante as quatro semanas que antecedem os testes.
- 2.3. Qualquer droga, para a qual exista evidência científica que possa interferir nos resultados dos testes sorológicos e/ou dificultar o isolamento das salmonelas, no período de três semanas que antecedem os testes.
- 2.4. Nos estabelecimentos matrizeiros, nos casos excepcionais avaliados pelo DDA, que estejam sob tratamento medicamentoso para *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, sob acompanhamento do MAPA, a avaliação será realizada de acordo com o capítulo VIII desta norma.
- 2.5. Só poderão ser utilizados vacinas, antígenos e soros de controle registrados no MAPA, observados os prazos de validade.
- 2.6. Somente poderão utilizar outras provas laboratoriais quando devidamente aprovadas pelo PNSA.
- 2.7. Os estabelecimentos avícolas deverão encaminhar à DFA do Estado de jurisdição um calendário mensal contemplando o cronograma de nascimento, importação e as datas das colheitas rotineiras de material realizadas pelo responsável técnico para dar ao Serviço Oficial oportunidade de harmonizar as datas de colheitas oficiais, bem como a fiscalização e supervisão no referido estabelecimento.

3. Da certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas

As granjas ou estabelecimentos que se submeterem ao programa receberão a certificação dos núcleos conforme especificado abaixo.

- 3.1. Certificação dos núcleos e estabelecimentos avícolas.
- 3.2. Livres de *Salmonella Gallinarum* (tifo aviário) e *Salmonella Pullorum* (pulorose).
- 3.3. Livres ou controlados para *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*.
- 3.4. Livres ou controlados para *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium* e vacinados contra *Salmonella Enteritidis*.

A íntegra dessa legislação poderá ser obtida no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento pelo site <www.agricultura.gov.br>.

Referências bibliográficas

- AMERICAN ASSOCIATION OF AVIAN PATHOLOGIST. *Avian disease manual*. 6ª ed. Atenas/Georgia: Charton B. R., 2006, pp. 106-114.
- BABA, E.; YAONO, M.; FUKATA, T.; ARAKAWA, A. "Infection by *Salmonella typhimurium*, *S. agona*, *S. enteritidis*, or *S. infantis* of chicks with cecal coccidiosis". *Br. Poult. Sci.*, v. 26, 1985, pp. 505-511.
- BACK, A. "Manual de doenças das aves", in: *Salmonelose*. 1ª ed. Cascavel: Coluna do Saber, 2006, pp. 57-68.
- BAILEY, J. S.; COX, N. A.; CRAVEN, S. E.; COSBY, D. E. "Serotype tracking of *Salmonella* through integrated broiler chicken operations". *Food protection*, v. 65, nº 5, 2002, pp.742-745.
- BARROW P. A. ELISAs and the serological analysis of salmonella in poultry: a review. *Epidemiol. Infect.*, v. 109, 1992, pp. 361-369.
- . "Serological diagnosis of *Salmonella* serotype *enteritidis* infections in poultry by ELISA and other tests". *Int. J. food microbiol.*, v. 21, 1994, pp. 55-68.
- BARROW, P. A.; BERCHIERI Jr.; AL-HADDAD, O. "Serological response of chickens to infection with salmonella gallinarum – *S. pullorum* detected enzyme-linked immunosorbent assay". *Avian dis.*, v. 36, 1992, pp. 227-236.
- BARROW, P. A.; HASSAN, J.; BERCHIERI Jr., A. "Reduction in faecal excretion of *Salmonella typhimurium* strain F98 in chickens vaccinated with live killed *S. typhimurium* organisms". *Epidemiol. infect.*, v. 104, 1990, pp. 413-426.
- BARROW, P. A.; HUGGINS, M. B.; LOVELL, M. A.; SIMPSON, J. M. "Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella typhimurium* infection in chickens". *Res. Vet. Sci.*, v. 42, 1987, pp. 194-199.
- BARROW, P. A.; SIMPSON, J. M.; LOVELL, M. A. "Intestinal colonization in the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes: Microbial characteristics associated with fecal excretion". *Avian pathol*, v. 17, 1988, pp. 571-588.
- BEACH, J. R.; DAVIS, D. E. "Acute infection in chicks and chronic infection of the ovaries of hens caused by the fowl typhoid organisms". *Hilgardia*, v. 2, 1927, pp. 411-424.
- BEAN, N. H.; GRIFFIN, P. M. "Food born disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles, and trends". *J. Food Prot.*, v. 53, 1990, pp. 804-817.
- BEAUDETTE, F. R. "The possible transmission of fowl typhoid through the egg". *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 67, 1925, pp. 741-745.
- BERCHIERI Jr., A. "Salmoneloses aviárias", in: BERCHIERI Jr., A.; MACARI, M. *Doenças das aves*. Campinas: Facta, 2000. pp. 185-196.
- BERCHIERI Jr., A.; DE CARVALHO, A. M.; FERNANDES, S. A.; IBA, A. M. "Detection of salmonella typhimurium in a broiler chicken flock. *Rev. Microbiol. São Paulo*, v. 24, 1993, pp. 212-213.

- BERCHIERI Jr., A.; FREITAS NETO. "Salmoneloses", in: *Doenças das aves*. BERCHIERI Jr., A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTEI, L.; ZUANAZE, M. A. F. 20ª ed. Campinas: Facta, 2009, pp. 435-454.
- BOKANYI, R. P.; STEPHENS, J. E.; FOSTER, D. N. "Isolation and characterization of Salmonella from broiler carcasses or parts". *Poult. Sci.*, v. 69, 1990, pp. 592-598.
- BOUZOUBAA, K. "Membrane proteins from Salmonella gallinarum for protection against fowl typhoid". Institute of Agronomy and Veterinary Medicine, Hassan II, Rabat, Morocco, 1988. Tese de doutorado.
- BOUZOUBAA, K.; NAGARAJA, K. V. "Epidemiological studies on the incidence of salmonellosis in chicken breeder/hatchery operations in Morocco", in: SNOEYENBOS, G. H. *Proc. Int. Symp. Salmonella*. New Orleans: American Association of Avian Pathologists, Kenett Square, PA, 1984, p. 337.
- BRASIL Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum* e livres ou controladas para *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium*. Atos legais. Instrução Normativa nº 3. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Poder Executivo, Brasília, 9 de janeiro de 2002.
- BUCHALA, F. G.; ISHIZUKA, M. M.; MATHIAS, L. A.; BERCHIERI Jr., A.; CASTRO, A.G.M.; CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; KANASHIRO, A.M.I. "Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella Pullorum* em aves de 'fundo de quintal' do Estado de São Paulo, Brasil". *Arch. Inst. Biol.*, v. 73, nº 1, 2006, pp. 1-5.
- BUHR, R. J.; RICHARDSON, L. J.; CASON, J. A.; COX, N. A.; FAIRCHILD, B. D. Comparison of Four Methods for the Detection of Salmonella in Broiler Litter. *Poultry Science* v. 86, 2007, pp. 21-25.
- BUXTON, A. Antibody production in a avian embryos and young chicks. *J. Gen. Microbiol.*, v. 10, 1954, pp. 398-410.
- BUXTON, A.; ALLAN, D. "Studies on immunity and pathogenesis of salmonellosis. I. Antigen-antibody reactions on circulating leucocytes of chickens infected with *Salmonella gallinarum*". *Immunology*, v. 6, 1963, pp. 520-529.
- CATALANO, C. R.; KNABEL, S. J. "Destruction of *Salmonella enteritidis* by high pH and rapid chilling during simulated commercial egg processing". *J. Food Prot.*, v. 57, 1994, pp. 592-595.
- CHART, H.; ROWE, B.; BASKERVILLE, A.; HUMPHREY, T. J. "Serological response of chickens to *Salmonella enteritidis* infection". *Epidemiol. Infect.*, v. 104, 1990, pp. 63-71.
- CHRISTENSEN, J. P.; SKOV, M. N.; HINZ, K. H.; BISGAARD, M. "Salmonella enterica serovar gallinarum biovar gallinarum in layers: epidemiological investigations of a recent outbreak in Denmark". *Avian Pathol.*, v. 23, 1994, pp. 489-501.
- COOPER, G. L.; VENABLES, L. M.; WOODWARD, M. J.; HORMAECHE, C. E. "Invasiveness and persistence of salmonella enteritidis, *Salmonella typhimurium*, and a genetically defined *S. enteritidis* A strain in young chickens". *Infect. Immun.*, v. 62, 1994, pp. 4.739-4.746.

- CORRIER, D. E.; HOLLISTER, A. G.; NISBET, D. J.; SCANLAN, C. M.; BEIER, R. C.; DELOACH, J. R. "Competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* in Leghorn chicks: Comparison of treatment by crop gavage, drinking water, spray, or lyophilized alginate beads". *Avian Dis.*, v. 38, 1994, pp. 297-303.
- COX, N. A.; BAILEY, J. S.; BERRANG, M. E.; BUHR, R. J.; MAULDIN, J. M. "Chemical treatment of *Salmonella*-contaminated fertilehatching eggs using an automated egg spray sanitizing machine". *J. Appl. Poult. Res.*, v. 3, 1994, pp. 26-30.
- COX, N. A.; WILLIAMS, J. F. "A simplified biochemical system to screen salmonella isolates from poultry for serotyping". *Poult. Sci.*, v. 55, 1976, pp. 1.968-1.971.
- CURTIS, P. E.; BOACHIE, F. "Survey of the health and husbandry of small poultry flocks in Great Britain". *The Vet. Rec.*, v. 111, nº 11, 1982, pp. 216-219.
- DAVIES, R. H.; WRAY, C. "An approach to reduction of *Salmonella* infection in broiler chicken flocks through intensive sampling and identification of cross-contamination hazards in commercial hatcheries". *Int J Food Microbiol.* v. 24, nº 1-2, 1994, pp.147-160.
- DICKENS, J. A.; WHITTEMORE, A. D. "The effect of acetic acid and air injection on appearance, moisture pick-up, microbiological quality, and *Salmonella* incidence on processed poultry carcasses". *Poult. Sci.*, v. 73, 1994, pp. 582-586.
- EDEL, W. "Salmonella enteritidis eradication programme in poultry breeder flocks in The Netherlands". *Int. J. Food Microbiol.*, v. 21, 1994, pp. 171-178.
- ELLIS, E. M.; WILLIAMS, J. E.; MALLINSON, E. T.; SNOEYENBOS, G. H.; MARTIN, W. J. "Culture Methods for the Detection of Animal Salmonellosis and Arizonosis". Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1976.
- FLENSBURG, J. "Programmes to control or eradicate *Salmonella* in animal production in Denmark". *Acta Vet Scand Suppl.*, v. 91, 1999, pp. 51-58.
- FRICKER, C. R. "The isolation of salmonellas and campylobacters". *J. Appl. Bacteriol.*, 63, 1987, pp. 99-116.
- GAST, R. K. "Detecting infections of chickens with recent *Salmonella Pullorum* isolates using standard serological methods". *Poult. Sci.*, v. 76, 1997, pp. 17-23.
- , "Salmonella Infections", in: CALNEK, B. W. *Diseases of Poultry*. 11ª ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 2003, pp. 81-96.
- , "Paratyphoid Infections", in: *Disease of Poultry*, 12ª ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2008, pp. 636-665.
- , "Paratyphoid infections", in: CALNEK, B. W. *Diseases of Poultry*. 11ª ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 2003, pp. 97-121.
- GIUROV, B. "Drug resistance of *Salmonella* strains isolated from poultry". *Veterinarno Meditsinsknauki Nauki*, v. 17, nº 6-7, 1980, pp. 38-43.
- GOURDEUK Jr., S.; GLANTZ, P. J.; CALLENBACH, E. W.; THORP, W. T. S. Transmission of fowl typhoid. *Poult. Sci.*, v. 28, 1949, pp. 385-391.
- GUARD-PETTER. "The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*". *Environ Microbiol.*, v. 3, nº 7, 2001, pp. 421-430.

- HARBOURNE J. F.; WILLIAMS B. M.; PARKER W. H.; FINCHAM I. H. "The prevention of fowl typhoid in the field using a freeze-dried 9R vaccine". *Vet. Rec.*, 75, 1963, pp. 858-861.
- HARVEY, R. W. S.; PRICE, T. H. "Isolation of Salmonellas". Londres: *Public Health Laboratory Service*, 1975.
- HINSHAW, W. R.; UPP, C. W.; MOORE, J. M. "Studies on transmission of bacillary white diarrhea in incubators". *J. Am. Vet. Assoc.*, v. 68, 1926, pp. 631-641.
- HITCHNER S. B. "History of biological control of poultry diseases in the USA". *Avian Dis.*, v. 48, 2004, pp. 1-8.
- HOLT P. S.; CHAUBAL, L. H. "Detection of motility and putative synthesis of flagellar proteins in *Salmonella pullorum* cultures". *J. Clin. Microbiol.*, v. 35, 1997, pp. 1.016-1.020.
- HOLT, P. S.; PORTER, R. E. "Effect of induced molting on the recurrence of a previous *Salmonella enteritidis* infection". *Poult. Sci.*, v. 72, 1993, pp. 2.069-2.078.
- HUMBERT, F.; SALVAT, G. "The risk of transmission of salmonellae in poultry farming: detection and prevention in Europe". *Rev. Sci. Techn. Office Internat. Epizooties*, v. 16, n° 1, 1997, pp. 83-90.
- HUTT, F. B.; CRAWFORD, R. D. "On breeding chicks resistant to pullorum disease without exposure thereto". *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, v. 2, 1960, pp. 357-370.
- ITOH, Y.; HIROSE, K.; MIYAKE, M.; KHAN, A. Q.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T. "Amplification of *rfb* and *flic* gene by polymerase chain reaction for identification and detection of *Salmonella* serovar *enteritidis*, *dublin* and *gallinarum-pullorum*". *Microbiol. Immunol.*, v. 41, 1997, pp. 791-794.
- IZAT, A. L.; COLBERG, M.; THOMAS, R. A.; ADAMS, M. H.; DRIGGERS, C. D. "Effects of lactic acid in processing waters on the incidence of Salmonellae on broilers". *J. Food Qual.*, v. 13, 1990, pp. 295-306.
- IZAT, A. L.; KOPEK, J. M.; MCGINNIS, J. D. "Incidence, numbers, and Serotypes of *Salmonella* on frozen broiler chickens at retail". *Poult. Sci.*, v. 70, 1991, pp. 1.438-1.440.
- JOHNSON, D. C.; DAVID, M.; GOLDSMITH, S. "Epizootiological investigation of an outbreak of pullorum disease in an integrated broiler operation". *Avian Dis.*, v. 36, n° 3, 1992, pp. 770-775.
- JONES, F. T.; AXTELL, R. C.; RIVES, D. V.; SCHEIDELER, S. E.; TARVER Jr., F. R.; WALKER, R. L.; WINELAND, M. J. "A survey of *Salmonella* contamination in modern broiler production". *J. Food Prot.*, v. 54, 1991, pp. 502-507 e 513.
- KAMAROV, A. "Fowl typhoid in baby chicks." *Vet. Rec.*, v. 12, 1932, pp. 1.455-1.457.
- KIM, J. W.; SLAVIK, M. F.; PHARR, M. D.; RABEN, D. P.; LOBSINGER, C. M.; TSAI, S. "Reduction of *Salmonella* on post-chill chicken carcasses by trisodium phosphate (Na_3PO_4) treatment". *J. Food Safety*, v. 14, 1994, pp. 9-17.
- LARSEN, G. J.; ROLOW, A. M.; NELSON, C. E. "The effect of organic acids on *Salmonella* contamination originating from mouse fecal pellets". *Poult. Sci.*, v. 72, 1993, pp. 1.797-1.799.

- LECLAIR, K.; HEGGART, H.; OGGEL, M.; BARLLET, F. M.; MCKELLAR, R. C. "Modeling the inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in simulated egg wash water". *Food Microbiol.*, v. 11, 1994, pp. 345-353.
- LEE, Y. J.; MO, I. P.; KANG, M. S. "Safety and efficacy of *Salmonella gallinarum* 9R vaccine in young laying chickens". *Avian Pathol.*, 34, 2005, pp. 362-366.
- LIU, G. R.; RAHN, A.; LIU, W. Q.; SANDERSON, K. E.; JOHNSTON, R. N.; LIU, S. L. "The evolving genome of *Salmonella enterica* serovar Pullorum". *J. Bacteriol.*, v. 184, 2002, pp. 2.626-2.633.
- LUCIO, B.; PADRON, M.; MOSQUEDA, A. "Fowl typhoid in Mexico", in: SNOEYENBOS, G. H. *Proc. Int. Symp. Salmonella*. New Orleans: American Association of Avian Pathologists, Kenett Square, 1984, pp. 382-383.
- MACHADO, J.; BERNARDO, F. "Prevalence of *Salmonella* in chicken carcasses in Portugal". *J. Appl. Bacteriol.*, v. 69, 1990, pp. 477-480.
- MALLINSON, E. T.; SNOEYENBOS, G. H. "Salmonellosis", in: PURCHASE, H. G. et al. 3rd ed. *Isolation and Identification of Avian Pathogens*. Iowa: Kendall Hunt Publishing, American Association of Avian Pathologists, 1989, pp. 3-11.
- MARTINAGLIA, G. "A note on *Salmonella gallinarum* infection of ten-day-old chicks and adult turkeys". *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.*, v. 1, 1929, pp. 35-36.
- MASON, J. "Salmonella enteritidis control programs in the United States". *Int. J. Food Microbiol.*, v. 21, 1994, pp. 155-169.
- McBRIDE, M. D.; HIRD, D. W.; CARPENTER, T. E.; SNIPES, K. P.; DANAYE-ELMI, C.; UTTERBACK, W. W. "Health survey of backyard poultry and other avian species located within one mile of commercial California meat-turkey flocks". *Avian Dis.*, v. 35, n^o 2, 1991, pp. 403-407.
- MCHROY, S. G.; MCCracken, R. M.; NEILLAND, S. D.; O'BRIEN, J. J. "Control, prevention and eradication of *Salmonella enteritidis* infection in broiler and broiler breeder flocks". *Vet. Rec.*, v. 125, 1989, pp. 545-548.
- MOORE, E. N. "Fowl typhoid transmission". *Delaware Agricultural Experiment Station Bulletin*, v. 22, 1946, p. 21.
- MORRISON, G. J.; FLEET, G. H. "Reduction of *Salmonella* on chicken carcasses by immersion treatments". *J. Food Prot.*, v. 48, 1985, pp. 939-943.
- MULDER, R. W. A. W.; VAN DER HULST, M. C.; BOLDER, N. M. "Salmonella decontamination of broiler carcasses with lactic acid, L-cysteine, and hydrogen peroxide". *Poult. Sci.*, v. 66, 1987, pp. 1.555-1.557.
- OBOEGBULEM, S. I.; COLIER, P. W.; SHARP, J. C. M.; REILLY, W. J. "Epidemiological aspects of outbreaks of food-borne salmonellosis in Scotland between 1980 and 1989". *Rev. Sci. Tech.*, v. 12, 1993, pp. 957-967.
- OLIVEIRA, G. H.; BERCHIERI Jr., A.; MONTASSIER, H. J.; FERNANDES, A. C. "Assessment of serological response of chickens to *Salmonella Gallinarum* and *Salmonella Pullorum* by Elisa". *Rev. Bras. Cienc. Avic.* v. 6, 2004, pp. 111-115.

- OPARA, O. O.; CARR, L. E.; RUSSEK-COHEN, E.; IATE, C. R.; MALLINSON, E. T.; MILLER, R. G.; STEWART, L. E.; JOHNSTON, R. W.; JOSEPH, S. W. "Correlation of water activity and other environmental conditions with repeated detection of *Salmonella* contamination on poultry farms". *Avian Dis.*, v. 36, 1992, pp. 664-671.
- PEVZNER, I. Y.; STONE, H. A.; NORDSKOG, A. W. "Immune response and disease resistance in chickens. Selection for high and low titer to *Salmonella pullorum* antigen". *Poult. Sci.*, v. 60, 1981, pp. 920-926.
- POTTER, M. E. "The changing face of food borne disease". *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 201, 1992, pp. 250-253.
- QIN, A. R.; FUKATA, T.; BABA, E.; ARAKAWA, A. "Effect of *Eimeria tenella* infection on *Salmonella enteritidis* infection in chickens". *Poult. Sci.*, v. 74, 1995, pp. 1-7.
- RAJASHEKARA, G. et al. "Application of Recombinant Fimbrial Protein for the Specific Detection of *Salmonella* Enteritidis Infection in Poultry". *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 32, 1998, pp. 147-157.
- RAO, S. B. V.; NARAYANAN, S.; RAMNANI, D. R.; DAS, J. "Avian salmonellosis: Studies on *Salmonella gallinarum*". *Indian J. Vet. Sci.*, v. 22, 1952, pp. 199-208.
- SCHAFFNER, D. F.; HANDY, M. K.; TOLEDO, R. T.; TIFT, M. L. "Salmonella inactivation in liquid whole egg by thermo radiation". *J. Food Sci.*, v. 54, 1989, pp. 902-905.
- SCHNEPE, M.; BARBEAU, W. E. "Survival of *Salmonella typhimurium* in roasting chickens cooked in a microwave, convection microwave, and a conventional electric oven". *J. Food Safety*, v. 9, 1989, pp. 245-252.
- SHELDON, B. W.; BRAKE, J. "Hydrogen peroxide as an alternative hatching egg disinfectant". *Poult. Sci.*, v. 70, 1991, pp. 1.092-1.098.
- SHIVAPRASAD, H. L. "Fowl typhoid and pullorum disease". *Rev. Sci. Techn. Office Internat. Epizooties*, v. 19, nº 2, 2000, pp. 405-424.
- SHIVAPRASAD, H. L.; BAROW, P. A. "Pullorum Disease and Fowl Typhoid", in: *Disease of Poultry*. 12ª ed. Ames, Iowa. Blackwell Publishing, 2008, pp. 620-635.
- SILVA, E. N. "The salmonella gallinarum problem in Central and South America". in: SNOEYENBOS, G. H. *Proc. Int. Symp. Salmonella*. New Orleans: American Association of Avian Pathologists, 1984, pp. 150-156.
- SIMKO, S. "Incidence of salmonellae in domestic fowl in Slovakia from 1971-1980". *Vet. Med.*, v. 29, nº 2, 1984, pp. 113-119.
- SIMON, V. A.; ISHIZUKA, M. M. "Doença Infecciosa da Bolsa de Fabricius - DIB", in: BERCHIERI Jr., A.; MACARI, M. *Doenças das Aves*. Campinas: Facta, 2000, pp. 301-314.
- SMYSER, C. F.; ADINARAYANAM, N.; VAN ROECKEL, H.; SNOEYENBOS, G. H. "Field laboratory observations on *Salmonella heidelberg* infections in three chicken breeding flocks". *Avian Dis.*, v. 10, 1966, pp. 314-329.

- SNOEYENBOS, G. H.; MCKIE, B. A.; SMYSES, C. E.; WESTON, C. R. "Progress in identifying and maintaining Salmonella-free commercial chicken breeding flocks, 1967-1969". *Avian Dis.*, v. 14, 1970, pp. 683-696.
- SOERJADI, A. S.; STEHMAN, S. M.; SNOEYENBOS, G. H.; WEINACK, O. M.; SMYSER, C. F. "Some measurements of protection against paratyphoid Salmonella and Escherichia coli by competitive exclusion in chickens". *Avian Dis.*, v. 25, 1981, pp. 706-712.
- STANLEY, J., BAQUAR, N. "Phylogenetics of Salmonella enteritidis". *Int. J. Food Microbiol.*, v. 21, nº 1-2, 1994, pp. 79-87.
- SU, Lin-Hui; CHIU, Cheng-Hsun. "Salmonella: Clinical Importance and Evolution of Nomenclature". *Chang Gung Med J.*, v. 30, nº 3, mai.-jun., 2007, pp. 210-218.
- TAKIMOTO, H.; BABA, E.; FUKATA, T.; ARAKAWA, A. "Effects of infection of Eimeria tenella, E. acervulina, and E. maxima upon Salmonella typhimurium infection in chickens". *Poult. Sci.*, v. 63, 1984, pp. 478-484.
- TAUXE, R. V. "Salmonella: A postmodern pathogen". *J. Food Prot.*, v. 54, 1991, pp. 563-568.
- THAYER, D. W.; BOYD, G. "Effect of ionizing radiation dose, temperature, and atmosphere on the survival of Salmonella typhimurium in sterile, mechanically deboned chicken meat". *Poult. Sci.*, v. 70, 1991, pp. 381-388.
- THAYER, D. W.; BOYD, G.; MULLER, W. S.; LIPSON, C. A.; HAYNE, W. C.; BAER, S. H. "Radiation resistance of Salmonella". *J. Ind. Microbiol.*, v. 5, 1990, pp. 383-390.
- THAYER, D. W.; DICKERSON, C. Y.; RAO, D. R.; BOYD, G.; CHAWAN, C. B. "Destruction of Salmonella typhimurium on chicken wings by gamma radiation". *J. Food Sci.*, v. 57, 1992, pp. 586-589.
- THAYER, D. W.; SONGPRASERTCHAI, S.; BOYD, G. "Effects of heat and ionizing radiation on Salmonella typhimurium in mechanically deboned chicken meat". *J. Food Prot.*, v. 54, 1991, pp. 718-724.
- TUCKER, J. F. "Survival of Salmonellae in built-up litter for housing of rearing and laying fowls". *Br. Vet. J.*, v. 123, 1967, pp. 92-103.
- TUMBULL, P. C. B.; SNOEYENBOS, G. H. "The roles of ammonia, water activity, and pH in the salmonellacidal effect of long-used poultry litter". *Avian Dis.*, v. 17, 1973, pp. 72-86.
- U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. National Poultry Improvement Plan and Auxiliary Provisions. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Hyattsville, MD, 1994.
- WALTMASN, W. D.; GAST, R. K. "Salmonellosis", in: *A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogen*. Louise Dufour-Zavalla (ed.). 5ª ed. AAAP, Athens, Georgia, 2008, pp. 3-9.
- WATANABE, S. T.; NAGAI, T.; HASHIMOTO, K.; KUME, T.; SAKAZAKI, R. "Studies on Salmonella infection in hens' eggs during incubation. VII. Transmission to eggs of agglutinins and immunity from hens infected with S. pullorum". *Bulletin of the National Institute of Animal Health*, nº 39, 1960, pp. 37-41.

- WHISTLER, P. E.; SHELDON, B. W. "Comparison of ozone and formaldehyde as poultry hatchery disinfectants". *Poult. Sci.*, v. 68, 1989, pp. 1.345-1.350.
- WILLIAMS, J. E. "Effect of high-level formaldehyde fumigation on bacterial populations on the surface of chicken hatching eggs". *Avian Dis.*, v. 14, 1970, pp. 386-392.
- . "Formalin destruction of Salmonellae in poultry litter". *Poult. Sci.*, v. 59, 1980, pp. 2.717-2.724.
- WILLIAMS, J. E.; BENSON, S. T. "Survival of *Salmonella typhimurium* in poultry feed and litter of three temperatures". *Avian Dis.*, v. 22, 1978, pp. 742-747.

Micoplasmose aviária

1 Introdução e histórico

A micoplasmose aviária é uma das principais enfermidades respiratórias que acometem aves de interesse comercial. A importância econômica dessa doença é maior para galinhas e perus que para outras espécies. O termo "micoplasmose" refere-se à infecção causada por bactérias do gênero *Mycoplasma* da família *Mycoplasmataceae*, classe *Mollicutes* (*Molli* = macio; *cutis* = pele). Essa bactéria é o menor micro-organismo (300 a 800 nm) patogênico para as aves que pode ser cultivado em meios artificiais. Seu tamanho se aproxima de um vírus grande, como o da boubá aviária (Pox). É desprovida de parede celular, o que a torna muito frágil no meio ambiente e sensível à grande maioria dos desinfetantes; porém, é resistente às penicilinas por atuarem justamente na parede da célula. Apesar disso, as micoplasmoses estão amplamente distribuídas no meio avícola. Distinguem-se de muitos outros agentes patogênicos das aves por serem todos de transmissão vertical.

Atualmente são conhecidas 120 espécies de *Mycoplasma* que infectam animais, até mesmo o homem e os insetos. Destas, 27 já foram identificadas em aves, sendo quatro consideradas patogênicas para perus: *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *Mycoplasma synoviae* (MS), *Mycoplasma meleagridis* (MM) e *Mycoplasma iowae* (MI). Para galinhas, duas são consideradas patogênicas: *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*. Em perus, a MM é responsável por um quadro respiratório, porém mais brando que a infecção por MG, e está praticamente erradicada da criação comercial no mundo. No Brasil, faz mais de vinte anos que ocorreu o último diagnóstico sorológico de MM. Infecção por MI é mais comum em algumas linhagens, porém causa reduzido impacto econômico e tem sido pouco investigada. Está relacionada a pequenas reduções de eclodibilidade e ocasionalmente a problemas de pernas. O que realmente preocupa, pelo grau de patogenicidade e perdas que provocam, tanto para galinhas como para perus, são as infecções por MG e MS. Estes causam, para ambas as espécies, problemas respiratórios e de locomoção, respectivamente. Podem provocar ainda problemas de qualidade da casca do ovo, redução de eclodibilidade, aumento de mortalidade embrionária, redução de performance geral, condenações no abatedouro e aumento de gastos com medicação. Classicamente são responsáveis pelo que denominamos "doença crônica respiratória" (DCR) em galinhas, sinusite infecciosa nos perus e sinovite infecciosa e aerossaculite em perus e galinhas. Evidências de campo indicam que existem algumas amostras de MS que são apatogênicas ou de baixa patogenicidade, ao passo que praticamente todos os MG são patogênicos. A infecção pelos micoplasmas tem predileção pelas membranas e mucosas do trato respiratório, articular e urogenitário. O trato reprodutivo também é colonizado. Os danos maiores são causados por infecções secundárias, principalmente por *E. coli*.

Uma característica bastante importante dos micoplasmas é a dificuldade de cultivar essa bactéria em laboratório. Elas exigem meios ricos em proteínas e em soro (10% a 15%) ou fatores séricos. Além disso, para isolamento do MS, devem ser adicionados ao meio de cultura nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e cisteína. O caldo PPLO e o Frey são os meios mais comuns para o isolamento inicial dos micoplasmas. Geralmente a multiplicação inicial parte

da inoculação em caldo. Havendo crescimento, este é semeado em meio sólido para a observação de colônias, que são pequenas, e não há como diferenciá-las entre as espécies pelos seus aspectos. A identificação pode ser confirmada pela prova de imunofluorescência, aplicada sobre as colônias. Alternativamente, as colônias podem ser inoculadas em aves suscetíveis e examinadas para a presença de anticorpos específicos contra MG, MS, MM e MI através da prova de HI ou ELISA. O teste de PCR também pode ser usado para confirmar e diferenciar as quatro espécies de micoplasma. Essa técnica tem ganhado popularidade, por ser mais acessível e adicionalmente permitir identificar o organismo ainda nos tecidos suspeitos, como traqueia, pulmão, sacos aéreos e articulações. Isso evita a necessidade da cultura e facilita muito o diagnóstico e o monitoramento.

Apesar de os micoplasmas serem bactérias muito pequenas, são capazes de induzir a formação abundante de anticorpos, porém as galinhas e perus podem permanecer portadores. O mesmo lote produz progênie infectada e progênie com anticorpos. Uma vez a galinha ou peru infectado, permanecem portadores e podem ser fontes de infecção por meses ou por toda a vida. Pelas características de transmissão transovariana e tempo de persistência na ave, a erradicação é o método mais eficaz de controle, que se baseia na eliminação de aves portadoras e na adoção de medidas rigorosas de biosseguridade. O programa de erradicação dos micoplasmas que acometem galinhas e perus deve ser iniciado a partir do material genético (linhas puras, bisavós) e estendido para avós e matrizes.

A primeira descrição de infecção por MG ocorreu em 1905 na Inglaterra. Em 1926 foi descrita nos Estados Unidos. No Brasil, a infecção por MG ocorre em todas as regiões. Em 1943 o MG foi cultivado pela primeira vez em ovos embrionados. O MS foi descrito pela primeira vez em 1954 nos Estados Unidos associado à sinovite infecciosa em perus. No final dos anos 1960 e início dos 1970 foi caracterizada a sua participação em quadros respiratórios, principalmente do trato aéreo superior.

O tratamento das aves com diferentes antibióticos não é suficiente para eliminar a infecção ou evitar a condição de portadora sã. Por outro lado, o tratamento dos ovos férteis por imersão ou injeção de antibióticos pode resultar na eclosão de pintos ou peruzinhos livres de micoplasmas. Foi com esse procedimento que se erradicaram

os quatro principais micoplasmas das linhagens comerciais de galinhas e perus. Como método alternativo, pode-se efetuar o aquecimento dos ovos a temperaturas suficientemente elevadas para causar a mortalidade de alguns embriões e eliminar a grande maioria dos micoplasmas. Aves livres de micoplasmas devem ser mantidas em isolamento e em granjas com boa biossegurança.

Devido à importância econômica da infecção dos micoplasmas nos plantéis de aves comerciais, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) instituiu no Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) normas técnicas para controle e certificação de estabelecimentos avícolas para a micoplasmose aviária (MG, MS e MM). Ver o tópico "Legislação" (página 230), para mais detalhes.

Os micoplasmas de aves estão muito adaptados a essas espécies e não são uma ameaça para a saúde pública, nem para outras espécies animais.

QUADRO 1

Principais espécies do gênero *Mycoplasma* segundo as aves domésticas que infecta

Aves (Hospedeiro principal)	Aves (Hospedeiro principal)
Galinhas	<i>M. gallisepticum</i>
	<i>M. gallinarum</i>
	<i>M. glycyphilum</i>
	<i>M. iners</i>
	<i>M. iowae</i> (I, J, K, N, Q, R)
	<i>M. lipofaciens</i>
	<i>M. pullorum</i>
	<i>M. synoviae</i>
	<i>M. cloacale</i>
	<i>M. columbinasale</i>
Perus	<i>M. gallinarum</i>
	<i>M. gallisepticum</i>
	<i>M. gallopavonis</i>
	<i>M. iners</i>
	<i>M. iowae</i>
	<i>M. lipofasciens</i>
	<i>M. meleagridis</i>
<i>M. synoviae</i>	
Patos	<i>M. anatis</i>
	<i>M. immitans</i>
Gansos	<i>M. anseris</i>
	<i>M. buteonis</i>
	<i>M. imitans</i>
Pombos	<i>M. columbinasale</i>
	<i>M. columbinum</i>
	<i>M. columborale</i>
Codornas e faisões	<i>M. gallinaceum</i>
	<i>M. gallisepticum</i>
	<i>M. glycyphilum</i>
	<i>M. pullorum</i>
	<i>M. synoviae</i>

Observação: Muitas das espécies de micoplasmas acima citadas ocasionalmente infectam outras espécies de ave.

Micoplasmose causada pelo *Mycoplasma gallisepticum*

1 Conceituação

A micoplasmose causada pelo *Mycoplasma gallisepticum* (MG) é uma doença principalmente sistêmica e respiratória, caracterizada por sinais e lesões de tosse, espirros, secreção nasal, sinusite, traqueíte, pneumonia e aerossaculite. A tosse e a descarga nasal estão presentes nas galinhas e em perus, mas a sinusite é mais evidente em perus. A evolução da doença em ambas as espécies é usualmente de curso lento e acompanhada de infecções secundárias, principalmente por *E. coli*. Quadros de aerossaculite em galinhas e aerossaculite e sinusite em perus são comuns. A cronicidade da manifestação respiratória também é conhecida por "doença crônica respiratória", abreviado por DCR. Doença de Newcastle, bronquite infecciosa, pneumovirose, amônia e pó ambiental, associados com *E. coli*, são os grandes complicadores da infecção por MG e responsáveis pela DCR.

2 Etiologia

2.1 O agente e suas características morfológicas

O *Mycoplasma gallisepticum*, assim como outros micoplasmas, são bactérias pleomórficas que, quando isoladas em meios de cultivo, coram-se bem pelo Giemsa. Ao microscópio ótico apresentam forma cocoide, medindo 0,25 a 0,7 μm . Após isolamento em meio líquido, segue-se cultivo em meio sólido (ágar), cujo crescimento é lento, e as colônias são arredondadas, com a parte central mais densa, não sendo possível, nessa fase, a diferenciação macroscópica entre as espécies. A diferenciação pode ser feita por inoculação em aves, HI com antíseros específicos, imunofluorescência e, mais recentemente, pela técnica de PCR.

2.2 Características de importância epidemiológica

Quando consideramos as diferentes espécies de micoplasma que infectam as aves, a despeito de a composição antigênica ser constante, apresentam variação de patogenicidade, virulência, célula-alvo e sobrevivência nas condições do ambiente, facilitando assim a disseminação nos plantéis avícolas. No caso de MG, mesmo sendo uma espécie, existem isolados de galinhas e de perus, que têm sido considerados como variantes ou cepas com dificuldade no isolamento. São menos patogênicos, menos imunogênicos e transmitem-se menos do que as estirpes de campo. Algumas estirpes isoladas têm sido utilizadas como referência. A cepa S6 de Zander foi a primeira cepa patogênica isolada a partir de cérebro de perus acometidos de sinusite. A estirpe A5969 foi isolada em 1955 e é considerada cepa-padrão para produção de vários antígenos. A cepa F patogênica foi isolada e descrita em 1956 e utilizada para preparo de vacinas destinadas às reprodutoras de corte para reduzir a transmissão pelo ovo. Isolados dessa cepa com patogenicidade moderada são empregados rotineiramente na produção de vacinas vivas. A cepa R foi isolada em 1963 e utilizada para preparo de vacinas inativadas e também empregada em desafios na avaliação de eficácia de vacinas. A cepa 4229T foi isolada em 1984 de patos e gansos na França e Inglaterra. Cepas utilizadas em vacinas vivas têm sido designadas por 6/85 e ts-11.

Embora as várias amostras apresentem alguma variação de patogenicidade e virulência, em termos de medidas de controle todas são consideradas idênticas, e a erradicação é o caminho a ser seguido. Isso porque se transmitem verticalmente e toda a progênie nasce infectada. Além disso, uma vez o lote positivo, não há procedimento ou medicação que o torne seguramente livre.

2.2.1 Infectividade e patogenicidade

A infectividade é considerada relativamente alta, pois pequenas doses são capazes de infectar praticamente todas as aves, e em seguida a doença se estabelece devido à alta patogenicidade. O número de aves que adoecem geralmente é alto, mas pode variar em função de diferentes estirpes, mecanismo de disseminação, número de passagens, via de inoculação e dose infectante. Entre todos os micoplasmas

que infectam aves, o MG é considerado o mais patogênico, e, embora as estirpes variem quanto à patogenicidade e virulência, em condições de campo todas são consideradas patogênicas.

2.2.2 Virulência

A gravidade da manifestação clínica pode variar com idade, espécie de ave, tipo de criação, cepa de desafio, ambiente, manejo e outras infecções. A morbidade tende a ser alta em qualquer idade, enquanto a mortalidade é baixa, principalmente em aves adultas. Ambas podem ser elevadas quando de complicação ambiental, de manejo e principalmente por agentes secundários. Em condições experimentais, fica claro que a manifestação da virulência está relacionada com a porta de entrada do MG, pois a inoculação intrassinusal ou diretamente nos sacos aéreos resulta em sinais e lesões mais graves. A inoculação no coxim plantar nem sempre resulta em sinais, que, quando presentes, são de moderada intensidade. Apesar de a infecção por MG ocorrer em qualquer idade, principalmente em galinhas e perus, a doença tende a ser mais severa em aves jovens.

2.2.3 Resistência

Entre todos os agentes que infectam aves, os micoplasmas pertencem ao grupo dos mais frágeis às condições do meio ambiente. Isso pode estar relacionado ao fato de ser uma bactéria diminuta, com reduzida informação genética e ausência de parede celular, tornando o MG altamente dependente do parasitismo em seu hospedeiro preferencial. Mesmo assim resiste e se difunde no ambiente, como mostrado a seguir.

- **No ambiente:** apesar da fragilidade, o MG permanece viável de 1 a 3 dias nas fezes a 20°C; 3 dias em vestuário a 20°C; e 1 dia a 37°C. No cabelo permaneceu viável por 2 a 3 dias. Resiste por 4 dias na superfície de ovos, por 6 dias à temperatura ambiente e 30 a 60 dias sob refrigeração.
- **Aos desinfetantes:** o MG é sensível a praticamente todos os desinfetantes utilizados na avicultura. Na prática não se tem encontrado resistência. Bons resultados têm sido obtidos com produtos à base de amônia, formol, fenol, cloro e β -propiolactona.

- **Nos ovos:** quando presente em ovos embrionados, foi necessário temperatura de 45,6°C durante 12 a 14 horas para inativação. No líquido corioalantoide de ovos em incubação permanece viável por 1 hora a 46°C e 20 minutos a 50°C. Na gema do ovo resistiu por 18 dias a 37°C ou 6 semanas a 20°C.
- **Congelamento e liofilização:** da mesma forma que para outros micro-organismos, as baixas temperaturas aumentam o tempo de sobrevivência dos micoplasmas. No caso do MG, amostras congeladas a -60°C ou liofilizadas mantêm-se viáveis por mais de dez anos.

3 Distribuição geográfica e prevalência

Na avicultura moderna a micoplasmose apresenta alta endemicidade, mas a incidência é variável. Tem sido maior em aves caipiras ou de fundo de quintal; depois, em postura comercial, e bem menor em aves de corte, como perus e galinhas. A incidência geral vem diminuindo em aves comerciais nas últimas duas a três décadas, graças à instituição de programas sanitários mais rigorosos de biosseguridade e monitoramento nas granjas. Porém, ainda permanece como problema econômico no setor de produção de ovos comerciais. Até os anos 1970, MG era endêmico em muitas criações de galinhas, incluindo linhas puras e avós, porém hoje todas se encontram livres, tanto de corte como de postura comercial e perus. Esporadicamente ocorrem surtos de MG em matrizes, mas prontamente são erradicados. A infecção persiste com maior frequência nas galinhas de postura comercial, provavelmente pela criação em idades múltiplas, altas concentrações, e pelo menor rigor das regras de biosseguridade.

No Brasil, o primeiro diagnóstico da infecção por MG ocorreu em 1956. A partir daí seguiram-se vários estudos epidemiológicos e todos mostram, até hoje, que o MG está presente em vários Estados e de forma amplamente disseminada. Pode-se, assim, inferir que está presente em todo o território nacional. Condenações de carcaças por aerossaculite é outro indicador importante da infecção

por MG. Nesse caso, os frangos de corte algumas vezes podem manifestar a doença e outras, não. Isso ocorre devido ao curto período de vida da ave e o período de incubação do MG ser relativamente longo (duas a três semanas). Em caso de perus comerciais, é mais frequente a infecção horizontal, pois as aves podem permanecer por até vinte semanas no campo. Nesses casos são observados sinais de sinusite, sendo muito evidente a presença de descarga nasal, tosse e espirros.

4 Importância econômica

Entre os vários micoplasmas que infectam aves, certamente a infecção por MG é a que tem maior significado econômico. Os prejuízos são de maneira direta e indireta. A forma direta é pelas perdas com mortalidade, condenações no abate, redução de desempenho (aumento de conversão alimentar e redução de ganho de peso), menor produção de ovos, menor eclosão e gastos com medicação. A forma indireta é pela limitação de comercialização. Tanto o mercado nacional como o de exportação não permitem a compra e venda de reprodutoras, nem pintos ou peruzinhos de 1 dia positivos para MG. Se mesmo assim forem criados, implica gastos significativos com medicação.

Os programas de prevenção e controle de MG também apresentam impacto econômico, pois incluem gastos com medidas de biossegurança, monitoramento e eventualmente uso de vacinas.

5 Hospedeiros

5.1 Hospedeiros naturais

Os hospedeiros naturais do MG são as galinhas e perus. Outras espécies de aves, como faisão, pato, perdiz, pavão, codorna, galinha-d'angola, pombo, papagaio do Amazonas, peru selvagem, ave voadora de vida livre, também podem se infectar, porém ainda não está comprovada sua participação como reservatórios. Estudos e evidências de campo indicam que as galinhas caipiras sejam os reservatórios mais importantes do MG para as aves comerciais.

5.2 Suscetibilidade ligada à idade

A infecção por MG pode ocorrer em qualquer idade, porém a intensidade e a severidade da doença são variáveis. Aves jovens tendem a apresentar sinais mais severos que as adultas. Quando a infecção ocorre por via vertical, os sinais são mais proeminentes. Aves adultas, após se infectarem, manifestam a doença com diminuição da postura, mas poucos sinais respiratórios.

5.3 Suscetibilidade ligada à espécie

Entre as duas espécies de maior importância, galinhas e perus, a suscetibilidade é idêntica, porém as consequências da doença são maiores em perus que em galinhas. Independentemente da idade que a infecção ocorra, os sinais clínicos e as perdas sempre são maiores em perus. Isso também fica evidenciado com a cepa F, que é utilizada como cepa vacinal para galinhas. Quando essa cepa infecta perus, produz doença de intensidade severa de sinusite, pneumonia e aerossaculite. Faltam estudos mais detalhados quanto à suscetibilidade nas demais espécies que se infectam naturalmente pelo MG; porém, em geral, são menos suscetíveis que os perus e as galinhas.

6 Fatores predisponentes

O estabelecimento da infecção por MG não é muito dependente de fatores predisponentes; porém, a severidade da doença é bastante dependente de fatores secundários. Apenas a infecção por MG, sem a complicação por *E. coli*, por exemplo, não induz às perdas que se observam nos surtos de campo. Além da *E. coli*, interferem na infecção o frio, a alta densidade de aves, a concentração excessiva de amônia e de pó, agravando a doença. Ademais, os vírus e as vacinas respiratórias contra bronquite infecciosa, doença de Newcastle e pneumovirose tornam uma infecção por MG muito mais severa. A criação de aves de múltiplas idades na mesma granja também é fator facilitador da infecção. Este ainda é um procedimento comum em aves de postura comercial, porém raro em reprodutoras comerciais.

7 Patogenia e mortalidade

A infecção por MG se estabelece inicialmente no epitélio do trato respiratório superior e, posteriormente, no epitélio do trato respiratório inferior. A mucosa respiratória é o principal alvo de multiplicação, seguida do trato reprodutivo. As lesões são variáveis de acordo com cada situação epidemiológica; assim, quando a infecção ocorre isoladamente, as consequências são relativamente brandas. Porém, em condições de campo, o quadro é rapidamente agravado por infecções intercorrentes, tais como por *E. coli*, vírus da bronquite infecciosa, da doença de Newcastle, da influenza aviária, pneumovirose, *Pasteurella multocida* e *Haemophilus paragallinarum*. Vírus de vacinas respiratórias podem desencadear um quadro respiratório complicado se estiverem na presença de MG. Excesso de pó e de amônia e falta de ventilação também agravam o quadro de infecção por MG. Quando a infecção está estabelecida em aves na fase reprodutiva, o MG pode ser eliminado através do ovo durante toda a vida, gerando progênie infectada. Assim que a infecção se estabelece, a disseminação do MG ocorre em todo o plantel, mas tende a ser mais lenta que a do MS.

A mortalidade é variável e dependente de infecções secundárias e de tratamento. Geralmente é baixa em aves adultas, e em aves jovens pode variar de 1% a 10%; em casos complicados, pode ser maior. A baixa mortalidade é mais bem observada em condições experimentais controladas. Nos casos de campo, sempre há infecção secundária, liderada por *E. coli*, que agrava consideravelmente a infecção e resulta em mortalidade. Outros vírus e bactérias, principalmente os respiratórios em infecção concomitante, também aumentam a mortalidade. Da mesma forma, problemas ambientais de alta densidade, presença de amônia, pó e erros de manejo também aumentam esse quadro. Por essas razões a mortalidade por MG pode variar de 1% a 20%. Tratamento com antibiótico pode reduzir significativamente essa mortalidade, principalmente se iniciado logo após a infecção.

7.1 Sinais clínicos

Considerando a infecção somente por MG, os sinais clínicos são significativamente menos severos, quando comparados com as infecções de campo complicadas por infecções secundárias ou intercorrentes. Em frangos e perus, os sinais mais comuns são: tosse; ronquidão; espirros; descarga nasal, sinusite; redução do consumo de ração, do ganho de peso e da produção de ovos. Galinhas de postura expostas à infecção durante a fase de crescimento apresentam produtividade mais baixa e podem não apresentar sinais clínicos durante a produção. Lotes expostos à infecção durante a fase de postura apresentam queda de produção, que pode persistir até o final do ciclo produtivo.

Em perus, a tosse e a sinusite são mais acentuadas que em galinhas. Da mesma forma, matrizes de perus apresentam redução na postura mais expressiva que galinhas. Lotes de frangos e perus comerciais podem ter condenações de carcaças no abatedouro extremamente altas por aerossaculite.



Matriz de corte com sinais de dificuldade respiratória, observados em caso de infecção por *Mycoplasma gallisepticum*.

7.2 Alterações patológicas

7.2.1 Alterações macroscópicas

As alterações macroscópicas na fase inicial da infecção por MG ou na ausência de infecção secundária são mais discretas e geralmente de natureza inflamatória. Observam-se presença de exsudato catarral nos seios e nas fossas nasais, traqueíte, sinusite e aerossaculite branda ou moderada. Quando ocorre infecção secundária por *E. coli* ou por outros patógenos respiratórios, podem aparecer aerossaculite severa, espessamento dos sacos aéreos com acúmulo de exsudato fibrinopurulento, pneumonia, pericardite e peri-hepatite. Perus desenvolvem sinusite mucopurulenta severa e ocasionalmente pneumonia fibrinopurulenta. A salpingite com acúmulo de exsudato caseoso pode estar presente tanto em galinhas como em perus em produção. A aerossaculite, a pericardite e a peri-hepatite tendem a ocorrer simultaneamente e são as principais causas de condenações parciais e totais em abatedouro.

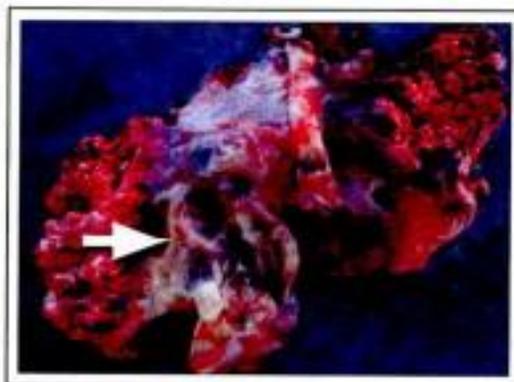
A medicação com antibiótico pode diminuir significativamente a presença e a severidade das alterações patológicas. No caso de

Infecção generalizada em pinto com presença de pericardite, peritonite, peri-hepatite e aerossaculite, causadas pelo *Mycoplasma gallisepticum* e complicada por infecção bacteriana secundária.

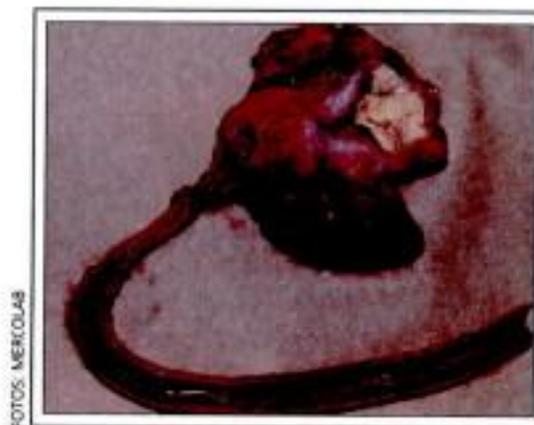


Lesões de aerossaculite e pneumonia causadas pelo *Mycoplasma gallisepticum*.





Pulmão com pneumonia (seta) e acúmulo de material caseoso; resultado da infecção pelo *Mycoplasma gallisepticum* (Colab. Marcos Grazziotin).



FOTOS: MERCOLAB

Traqueite (presença de grande quantidade de secreção) e pneumonia em infecção natural causadas pelo *Mycoplasma gallisepticum*.

infecção vertical, os embriões não eclodidos podem apresentar acúmulo de exsudato inflamatório nos sacos aéreos, sendo um achado importante para o diagnóstico presuntivo da infecção.

7.2.2 Alterações microscópicas

Microscopicamente observa-se espessamento da membrana da mucosa do trato respiratório, com infiltração variando de difusa a nodular de células mononucleares na traqueia e sacos aéreos. Ocorre também hiperplasia das células caliciformes. Nos sacos aéreos ocorre grande deposição de fibrina. No pulmão podem ser observadas áreas de pneumonia intersticial e linfofoliculares, que eventualmente progridem para lesões granulomatosas. Na traqueia ocorre marcada destruição ciliar. Salpingite em aves de postura está associada com espessamento da mucosa do oviduto devido à hiperplasia epitelial e à infiltração linfoplasmática.

7.3 Diagnóstico

7.3.1 Diagnóstico presuntivo

O diagnóstico presuntivo pode ser realizado com base na presença de lesões e sinais clínicos respiratórios, acompanhado de informações epidemiológicas, como histórico do lote e ocorrência da doença na granja ou na região. Para o diagnóstico definitivo há a necessidade de se contar com apoio laboratorial. Evidências sorológicas também podem auxiliar na suspeita.

7.3.2 Diagnóstico clínico

Os sinais clínicos da micoplasmose causada pelo MG apresentam ampla variedade de manifestações. A forma mais comum é a doença respiratória que ocorre em aves de corte. Nas galinhas há comprometimento respiratório e principalmente queda de produção. Ocorrem casos de infecções com evidências sorológicas, mas ausência de sintomas. Isso se verifica quando as aves se infectaram na idade jovem e se tornaram portadoras sadias. Em frangos de corte raramente há infecção horizontal; quando a doença se manifesta, ela é decorrente de transmissão vertical. Os sinais de doença respiratória podem aparecer desde a primeira semana, mas tendem a ser mais dramáticos entre 4 e 8 semanas de idade devido aos contaminantes secundários. Dificuldade respiratória e condenações no abatedouro são as manifestações mais importantes para o diagnóstico clínico em frangos e perus comerciais. No caso de aves em produção, a queda na postura é o sinal mais evidente. Por não haver sinais clínicos patognômicos para o diagnóstico da infecção de MG, a confirmação é conduzida com apoio laboratorial.

7.3.3 Diagnóstico laboratorial direto

O diagnóstico laboratorial direto é feito pela detecção do MG através de provas moleculares ou pelo isolamento. O órgão preferencial para isolamento é a traqueia e amostras colhidas por suabes ou raspagem. O MG também pode ser recuperado do exsudato de sacos aéreos, pulmões, fluido de sinus nasais e da fissura palatina. Recomenda-se colheita de material no início dos sinais clínicos para

evitar a presença de bactérias contaminantes que dificultam o crescimento e o isolamento do MG, bem como evitar a colheita do terço inicial da traqueia por haver maior contaminação secundária. O isolamento do micoplasma de infecções crônicas é mais difícil.

Para o crescimento inicial do MG utiliza-se caldo de cultivo específico para micoplasmas, PPLO ou Frey, suplementado com 10% a 15% de soro equino, suíno ou de aves. Incuba-se em aerobiose a 37°C por 3 a 5 dias, sendo, muitas vezes, necessárias duas a três passagens cegas por 5 a 7 dias para aumentar a probabilidade de isolamento. Após o cultivo preliminar do material suspeito em meio líquido, o caldo que apresentar crescimento bacteriano é semeado em placas com meio sólido de Frey (ágar) e incubado a 37°C por 3 a 7 dias. A identificação pode ser facilitada pelo emprego de alguns testes bioquímicos, como a fermentação da glicose, hidrólise da arginina e atividade da fosfatase. Teste de Dienes também pode auxiliar e os micoplasmas tornam-se azuis. Acetato de tálio e penicilina geralmente são usados no meio de isolamento para inibir crescimento de outros micro-organismos. A confirmação definitiva das colônias é realizada pela prova de imunofluorescência direta ou indireta, ágar gel precipitação, imunoperoxidase direta ou procedimento molecular pela técnica de PCR, em que se detecta sequência ribossomal 16S de mRNA específica para cada espécie.

Pelo fato de o isolamento dos micoplasmas ser complexo e demorado, tanto o diagnóstico como o monitoramento estão sendo realizados pela prova de PCR, a qual apresenta elevada sensibilidade. O resultado pode ser obtido em aproximadamente 24 horas e amostras de traqueia têm sido o órgão de eleição para detectar o ácido nucleico; porém, outros órgãos acima mencionados para isolamento também podem ser utilizados.

7.3.4 Diagnóstico laboratorial indireto

A infecção por MG estimula tanto a imunidade celular como a imunidade humoral e há indicações da importância de ambas na proteção da ave. Infelizmente, do ponto de vista prático, não se dispõe de instrumentos laboratoriais para avaliar a imunidade celular. Por outro lado, a imunidade humoral ou circulante pode ser

medida ou avaliada por três provas sorológicas comumente usadas: SAR, HI e teste de ELISA. Assim, anticorpos circulantes geralmente são detectados duas a três semanas após a infecção. A velocidade de aparecimento destes está diretamente dependente da dose infectante, pois quanto maior a dose mais precocemente são detectados. À semelhança do que ocorre com infecções por outros agentes, o primeiro anticorpo produzido é a IgM (imunoglobulina de elevado peso molecular e em forma de pentâmero), que surge a partir da primeira semana após o início da infecção, perdurando por algumas semanas e declinando a níveis bastante baixos. Nesse interim, a IgG é produzida (iniciando 7 a 10 dias após a infecção), atingindo altos títulos, que se mantêm por vários meses. Enquanto persistir a IgM e títulos de IgG forem elevados, a prova de SAR apresenta menor frequência de falso-positivos e a aglutinação é mais facilmente visualizada. O teste de HI detecta principalmente anticorpos de natureza IgG, que pode perdurar por longo tempo. Semelhantemente ao teste de ELISA, o HI detecta IgG. Existem evidências de uma tênue reação sorológica cruzada entre MG e MS, mas ela não interfere significativamente no diagnóstico e na monitoria sorológica.

Apesar de o organismo da ave elaborar resposta imune em consequência da infecção, o MG encontra mecanismos para iludir a resposta imune e não é totalmente eliminado do organismo da ave. É possível que esse fato seja decorrente da ação do micoplasma no sistema imune mediado por célula, estimulando ou suprimindo os linfócitos T e B e a produção de citocinas. Foi demonstrado, principalmente na fase aguda da infecção, estímulo de linfócitos do tipo CD8+, bem como a presença de células NK e linfócitos citotóxicos. Em condições experimentais, pela estimulação de linfócitos, foram detectadas linfoproliferação, produção de interferon e óxido nítrico, presumindo que o mesmo fenômeno deva ocorrer nas infecções de campo.

Apesar de existirem amostras de MG com diferenças na patogenicidade e imunogenicidade, todos os isolados conhecidos até hoje pertencem a um único sorotipo. Assim, o diagnóstico sorológico é um valioso instrumento que pode ser associado ao diagnóstico clínico. O teste de SAR tem sido usado como prova de

triagem; quando positivo, pela sua inespecificidade, deve ser confirmado pelo HI ou ELISA. Nesse caso, para reduzir a inespecificidade, considera-se resultado positivo apenas quando a aglutinação ainda ocorrer após a diluição do soro a 1:10 em PBS. Já o teste de HI é positivo quando o título for superior a 40 (inverso da diluição); títulos iguais a 40 são considerados suspeitos e os inferiores, negativos.

Na tabela 2 estão reunidas algumas das principais características dessas provas.

TABELA 2

Principais características das provas sorológicas aplicadas no diagnóstico indireto da micoplasmose causada pelo *M. gallisepticum*

Prova sorológica	Anticorpos mensurados e níveis detectados	Sensibilidade x Especificidade	Principais características da prova
SAR	IgM e IgG (altos e médios)	Moderada x Moderada	Podem ocorrer falso-positivos, pois não detecta baixos níveis de IgG. Recomendada para triagem.
HI	IgM e IgG (altos, médios e médios/baixos)	Alta a moderada x Alta	Utilizada como prova confirmatória, exige experiência e é bastante específica.
ELISA	IgM e IgG (altos, médios, médios/baixos e baixos)	Alta x Alta	Utilizada como prova confirmatória, detecta baixos níveis de anticorpos. Exige equipamentos apropriados.

A prova de SAR é de simples execução, não requer equipamentos e é menos onerosa que o HI e o ELISA. Detecta principalmente imunoglobulina IgM e títulos médios e altos de IgG. Ocasionalmente podem aparecer falso-positivos, havendo a necessidade de se confirmar por outra prova, como o HI ou o ELISA.

A prova de HI é de média complexidade para realização, a reprodutibilidade, razoável e de custo relativamente baixo, mas a dificuldade repousa na obtenção de antígeno. Caracteriza-se pela elevada especificidade, mas menos sensível que a prova de ELISA.

A prova de ELISA é o teste sorológico mais completo, pois é altamente sensível e específico. Exige equipamento relativamente sofisticado, porém permite realizar elevado número de soros em pequeno intervalo em face de sua padronização e semiautomação.

8 Epidemiologia

Uma vez a infecção estabelecida num plantel, ela se dissemina com facilidade dentro do lote e entre lotes próximos. As fontes de infecção podem ser várias; as duas mais importantes são as aves doentes e as aves portadoras convalescentes. Ambas eliminam o MG pelas secreções oronasais, pelo ovo e pelo sêmen, podendo a progênie nascer infectada. A transmissão da infecção das aves infectadas para as suscetíveis ocorre através de aerossóis, fômites, alimentos, veículos, equipamentos e pessoas que carregam o micoplasma em vestuários e materiais contaminados. Ocasionalmente a disseminação do MG num plantel pode ser lenta, principalmente em aves tratadas com antibiótico. A doença só é detectada no abatedouro pela observação de aerossaculite.

O tentilhão (*Carpodacus mexicanus*) foi identificado como um reservatório, porém as fontes de infecção mais importantes em nosso meio são as galinhas de fundo de quintal, criações informais sem biosseguridade e galinhas de postura comercial criadas em idades múltiplas e em ambientes com baixa biosseguridade. Há dúvidas quanto à importância de aves voadoras como reservatórios de MG. O estado de ave portadora ocorre pelo fato de o micoplasma não ser reconhecido pelo sistema imune. O mecanismo desse fenômeno não está devidamente esclarecido e admite-se que possa ser favorecido pelo fato de os micoplasmas serem micro-organismos intracelulares.

8.1 Cadeia de transmissão

8.1.1 Fontes de infecção

As principais fontes de infecção são as aves doentes, as portadoras e os reservatórios (aves de vida livre e silvestres). Aves de fundo de quintal estão frequentemente envolvidas na origem de surtos de campo de aves comerciais.

8.1.2 Vias de eliminação

A eliminação do MG ocorre principalmente pelas secreções nasais e é também detectado no ovo e no sêmen. Portanto, inseminação artificial, prática comum em perus, pode ser uma via de infecção. O fato de a transmissão vertical ser a principal na disseminação do MG tem gerado limitações no comércio nacional e internacional. A grande maioria dos países com avicultura comercial tem legislação que limita ou proíbe a comercialização de aves positivas.

8.1.3 Vias de transmissão

A disseminação do MG para um plantel livre geralmente está associada a pessoas ou equipamentos que tiveram contato com outras aves infectadas. Funcionários das granjas são os principais agentes de carreamento do micoplasma. O período de incubação varia de uma a três semanas, dependendo principalmente da dose desafiante. Em caso de infecção horizontal, dificilmente os sinais surgem antes de duas semanas da infecção.

8.1.4 Porta de entrada

A principal porta de entrada é a oronasal; portanto, por inalação ou ingestão, o MG estabelece a infecção. Pelo fato de ocorrer infecção pela inseminação, o trato reprodutivo também é uma porta de entrada.

8.1.5 Suscetíveis

Galinhas e perus são as espécies mais suscetíveis. Aves mais jovens tendem a ser mais suscetíveis que as adultas, porém a infecção pode ocorrer em qualquer idade. Em várias outras aves o MG foi detectado, como em faisão, pato, perdiz, pavão, codorna, galinha-d'angola,

pombo, papagaio do Amazonas, peru selvagem e em ave voadora de vida livre, mas esta parece não participar de maneira significativa na cadeia epidemiológica.

8.2 Profilaxia

8.2.1 Tratamento

Tratamento de lotes infectados por MG não é a primeira alternativa para controle, pois as drogas existentes são parcialmente eficazes e a infecção por micoplasma está sempre acompanhada por infecções secundárias que dificultam ainda mais a eficiência do tratamento. Lotes de frangos ou perus comerciais que se infectam na idade de abate devem ser imediatamente enviados ao abate. Quando a infecção é de transmissão vertical, o tratamento apresenta melhores resultados se introduzido a partir da primeira semana. No caso de reprodutoras, o tratamento pode cessar a manifestação clínica, estabilizar a mortalidade e a produção, diminuir a taxa de transmissão transovariana a praticamente zero; porém, não garante a eliminação completa da infecção. Após a suspensão do tratamento a infecção pode retornar. Tratamento periódico ou tipo pulso, com uma dose elevada por uma semana; depois, três semanas, com dose de manutenção, repetido alternadamente até o final da vida produtiva, tem mostrado ser eficiente na maioria das vezes. Evita a transmissão vertical e torna a ave sorologicamente negativa, porém tende a ser tratamento de alto custo.

Vários antibióticos são eficazes contra o micoplasma e agentes secundários, especialmente os do grupo dos macrolídeos. Tilosina, tiamulina e avilosina são mais específicos, porém menos eficazes para combater infecções secundárias. A associação deles tem sido uma alternativa. Os mais comumente usados são tilosina, tiamulina, avilosina, enrofloxacin, tetraciclina, lincomicina, espectinomicina e eritromicina. O tratamento pode ser feito via água ou ração e perdurar no mínimo por uma semana. Em perus com sinusite e nos casos mais graves, o antibiótico pode ser ministrado por via injetável. Nos programas de erradicação em plantéis de reprodutoras, recomenda-se tratar os ovos férteis com antibióticos. Esse procedimento foi muito utilizado no passado para erradicar o MG do material genético, tanto de galinhas como de perus.

8.2.2 Controle e prevenção

No caso de reprodutoras, uma vez a infecção detectada, a alternativa mais indicada é a eliminação das aves para evitar que a doença se dissemine, tanto horizontal como verticalmente. No caso de aves de corte, o tratamento pode ser utilizado para amenizar as perdas, mas em seguida proceder ao abate. Porém, o princípio geral de controle e prevenção fundamenta-se na obtenção de aves livres, e todo o esforço deve ser canalizado para mantê-las livres até o final da produção. Para tanto é imprescindível que sejam estabelecidos bons cuidados de biosseguridade. Em toda a avicultura organizada existem programas estrategicamente delineados para prevenir e controlar o MG.

O uso de vacinas também pode estar incluído como parte das medidas preventivas. A primeira vacina surgiu ainda na década de 1970. Tratava-se de uma bacterina oleosa que foi usada em frangas de postura comercial. Atualmente existem bacterinas aprimoradas pela incorporação de adjuvantes de melhor qualidade, que incluem adição de lipossomos. Mais tarde foram desenvolvidas vacinas vivas, entre as quais a cepa F, muito utilizada na postura comercial. Apesar de ser pouco patogênica para galinhas, essa cepa é bastante patogênica para perus. Mais recentemente foram desenvolvidas outras duas cepas vivas atenuadas, denominadas 6/85 e ts-11. Estas apresentam patogenicidade muito baixa para galinhas e perus e estão comercialmente disponíveis.

Micoplasmose causada pelo *Mycoplasma synoviae*

1 Conceituação

A micoplasmose causada pelo *Mycoplasma synoviae* (MS) é uma doença infecciosa das aves que se caracteriza por quadros de locomoção e respiratório e às vezes por ausência de sinais clínicos. O primeiro, e considerado clássico, é a sinovite, que causa inflamação das membranas sinoviais, tendinite exsudativa e ocasionalmente bursite. Esse quadro geralmente surge depois de uma septicemia. O segundo, e mais comum, é um quadro respiratório, que na maioria das vezes é brando, mas pode ser complicado por outros agentes. Muitas das infecções por MS cursam sem a manifestação de sinais clínicos. A forma respiratória e locomotora pode ocorrer simultânea ou independentemente. Em todas as manifestações suceder envolvimento do aparelho reprodutor, pois, havendo infecção, sempre ocorre transmissão vertical. Tanto galinhas como perus são igualmente afetados.

2 Etiologia

2.1 Características morfológicas do agente

O *Mycoplasma synoviae* é uma das menores bactérias conhecidas, isenta de parede celular e pleomórfica. Apresenta grande similaridade morfológica com o *Mycoplasma gallisepticum* (MG). As condições e exigências para crescimento e identificação em meios de cultura artificiais são muito similares ao MG, com exceção da necessidade de dinucleotídeo nicotinamida adenina (NAD) para seu cultivo. Várias espécies do gênero *Mycoplasma*, incluindo o MS, apresentam aspecto, tamanho, cor e morfologia das colônias muito similares. A diferenciação pode ser feita por vários métodos, sendo os mais comuns: imunofluorescência, PCR e inibição da hemaglutinação (HI), com os antissoros específicos para cada espécie pesquisada. Podem

ainda ser diferenciadas por inoculação em aves com observação dos sinais clínicos e soroconversão. Para mais detalhes, ver introdução deste capítulo e o item sobre MG, na página 196.

2.2 Características de importância epidemiológica

2.2.1 Infectividade

O MS apresenta grau relativamente alto de infectividade, que se evidencia pela facilidade com que o agente se dissemina em um plantel. Uma vez estabelecida a infecção, a difusão é rápida. Isso foi comprovado experimentalmente em pintos, os quais foram expostos a três estirpes de MS. A infecção foi confirmada pela prova de PCR com isolamento após 3 dias nos inoculados e 7 a 14 dias nos contatos. Anticorpos foram detectados pela soroaglutinação em placa entre 3 e 4 semanas decorridos do resultado positivo no PCR.

2.2.2 Patogenicidade

A patogenicidade do MS é variável, mas de um modo geral pode ser considerada médio-baixa. Existem cepas que causam grau moderado de aerossaculite, outras causam tenossinovite, mas a grande maioria delas provoca infecção sem aparente doença clínica e/ou perdas de produtividade. Tanto nos casos de tenossinovite como de aerossaculite as perdas se elevam quando há contaminantes secundários, principalmente *E. coli*.

2.2.3 Virulência

Da mesma forma que a patogenicidade é variável, a virulência também o é, e pode ser considerada médio-baixa. Diferentes estirpes apresentam distintos graus de virulência, porém número significativo delas pode ser considerado avirulento para manifestação clínica, lesões e perdas de produtividade.

2.2.4 Resistência

A resistência geral do MS no ambiente é baixa, semelhante a do MG. Sobrevive pouco tempo fora da ave. Em ambientes em que foram povoados por pintinhos infectados, esvaziados, levados, desinfetados e mantidos desocupados por uma semana, quando repovoados,

não houve reinfecção. O MS é instável à temperatura superior a 39°C, porém estável quando congelado. Existem poucas informações sobre a sensibilidade aos desinfetantes; presume-se que seja igual aos outros micoplasmas – sensível a praticamente todos.

2.2.5 **Imunogenicidade**

Galinhas respondem melhor ao estímulo imunogênico do MS que perus. Anticorpos são detectados em pintos 2 a 4 semanas depois da infecção. Em perus, a resposta é mais branda, pois em alguns casos de infecção, como na respiratória, a resposta pode não ser detectada claramente pela SAR. Portanto, a SAR nem sempre é um valioso recurso para identificar fontes de infecção. Esse fato parece estar ligado a algumas cepas de campo e somente em perus. Em geral, o padrão de resposta imune do MS é bastante similar ao do MG. O teste de SAR, HI e ELISA estão disponíveis para MS e apresentam sensibilidade e especificidade idênticas ao do MG (ver item MG, na página 196, para mais detalhes). Soro positivo para MS ocasionalmente pode aglutinar com antígeno da prova de soroaglutinação rápida em placa para MG, e existem duas hipóteses para esse fato: presença de alguns antígenos comuns entre MG e MS, e nesse caso era esperado que essa falsa reação devesse ser mais comum e não ocasional; a outra possibilidade é que fatores reumatóides estimulariam a reação tecidual. Nos testes de HI ou ELISA essa interferência de falsa reação parece ser bem menor que no SAR. Também não se observa falso-positivos com soros MG positivos em SAR com antígeno para MS.

Há evidências de que algumas amostras de MS estão mais adaptadas para vias respiratórias e outras para as articulações, mas todas pertencem ao mesmo sorogrupo, o que facilita o diagnóstico e a monitoria sorológica. Esse fato também colabora para que se utilize uma única vacina. Em infecção natural, os pintinhos respondem bem ao estímulo imunogênico de uma infecção.

Embora o MS apresente certa heterogeneidade que pode ser identificada por técnica de restrição de endonuclease, vários outros estudos por técnicas de hibridização DNA-DNA revelam pouca variação entre diferentes isolados, o que suporta o fato de existir um único sorotipo.

3 Distribuição geográfica e prevalência

A doença foi descrita pela primeira vez nos Estados Unidos, em galinhas, em 1954, e em perus, em 1955. A infecção por MS ocorre em todo o mundo, porém a adoção dos programas de erradicação contribuiu para a redução de sua incidência nas últimas décadas. No Brasil, a infecção por MS tem sido detectada em reprodutoras de corte e poedeiras comerciais alojadas em granjas com altas densidades e com falhas na biossegurança. A primeira descrição ocorreu em São Paulo em 1956 e atualmente está distribuída em todo o território nacional. Aves de qualquer idade podem infectar-se, mas a doença tende a ser mais grave em aves jovens ou quando ocorre associação com outros patógenos. Em galinhas, a infecção por MS tende a ocorrer entre 4 e 12 semanas; em perus, entre 10 e 20 semanas. A falta de evidências convincentes de que algumas amostras de MS causem perda de produtividade fez com que o programa de controle implantado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento não seja tão rigoroso como para MG. É provável que isso resulte na permanência de MS em muitos lotes.

A maioria dos surtos de MS que ocorre em galinhas e sem manifestação de sinais clínicos. A infecção em postura comercial é mais frequente que em matrizes de corte. Perus também podem se infectar e manifestar, ou não, sinais clínicos. Essas duas espécies são consideradas hospedeiros naturais. A infecção também tem sido documentada em patos, gansos, faisões, codornas, pombos e galinhas-d'angola. Há descrição também em alguns pássaros, mas não parece que estes sejam importantes na cadeia epidemiológica. Coelhos, ratos, porcos-da-índia, camundongos e suínos não foram suscetíveis à inoculação experimental.

Sinovite infecciosa foi inicialmente observada em aves em crescimento de 4 a 12 semanas de idade das regiões de alta densidade de aves de corte no período de 1950 a 1960, nos Estados Unidos. Nas duas décadas seguintes, a manifestação na forma de sinovite foi diminuindo, dando lugar à crescente incidência de doença respiratória, comum em poedeiras comerciais criadas em ambientes de múltiplas idades. No Brasil também tem se tornado menos frequente a manifestação de sinovite e mais frequente infecções com manifestação respiratória e sem manifestação clínica.

Estudos epidemiológicos realizados em criações de fundo de quintal e de subsistência, nos Estados Unidos, revelaram mortalidade de galinhas em decorrência de doença respiratória. Os dados sorológicos constataam que nesses casos houve prevalência de 33% de positividade para MS e MG. Existem muitos relatos de MS em galinhas de fundo de quintal e aves ornamentais em diferentes partes do mundo. Em alguns casos resultou na introdução de vacina contra MS e MG. Porém, no caso de reprodutoras, esse fato é bem menos frequente.

4 Importância econômica

A infecção por MS, principalmente em galinhas e perus, tem importância econômica significativa, embora menor que a importância da infecção por MG. Os prejuízos podem ocorrer de duas maneiras: a primeira é em consequência das lesões articulares, aerossaculite, condenações no abate, mortalidade e consequente redução da performance geral; a segunda é devida à limitação de comercialização de aves para criação e reprodução. Todos os países e empresas com avicultura industrial competitiva procuram manter seus plantéis livres de MS e evitam compra de aves contaminadas.

5 Hospedeiros

Os hospedeiros naturais mais importantes do MS são as galinhas e os perus. A infecção natural também ocorre em galinhas-d'angola, patos, gansos, pombos, marrecos japoneses, mas a estes não são atribuídas muita importância como reservatórios da infecção. Outras aves e mamíferos parecem não ter nenhuma importância epidemiológica a não ser como carreador do micoplasma.

6 Condições predisponentes

Criatórios deficientes em biossegurança são grandes facilitadores para a infecção por MS. Além disso, a criação em idades múltiplas no mesmo ambiente facilita o aparecimento do MS e a sua persistência nos lotes. Criação comercial próximo de aves de fundo de quintal também facilita a infecção. O uso de vacinas contra enfermidades

respiratórias, como doença de Newcastle ou bronquite infecciosa, por si só não causa a infecção, mas pode abrir a porta como agentes facilitadores. Imunossupressão por micotoxinas, anemia ou Gumboro podem predispor a infecção por MS. A *E. coli* é sempre um agente agravante da infecção. Fatores como frio, alta densidade, amônia e pó facilitam e, principalmente, agravam a doença.

7 Patogenia e mortalidade

Após penetrar no organismo das aves suscetíveis, o microplasma se dirige para os tecidos-alvos de multiplicação do MS, que são inicialmente a mucosa do trato respiratório, e em seguida para as articulações e o trato reprodutivo. As lesões variam de acordo com as condições epidemiológicas e principalmente com a cepa envolvida e infecções concomitantes. Assim, quando a infecção ocorre isoladamente, as consequências são relativamente brandas ou inexistentes; porém, em condições de campo, o quadro pode ser agravado por infecções intercorrentes. Amostras isoladas de lesões de sacos aéreos causam mais frequentemente aerossaculite e aquelas isoladas de sinóvias provocam maior número de sinovites. Nas articulações, o MS não acomete o tecido ósseo, nem o cartilaginoso. As alterações ocorrem nas membranas sinoviais e demais tecidos articulares. Tratamento com antibióticos pode reduzir significativamente a severidade das lesões e eventualmente a mortalidade, principalmente se iniciado logo após a infecção.

Atualmente no Brasil a grande maioria dos lotes infectados por MS não desenvolvem lesão articular, nem manifestação respiratória ou reprodutiva, transcorrendo de forma assintomática. Esse fato contrasta com a literatura que relata infecção experimental em galinhas de postura com queda de produção na primeira semana, atingindo 18% na segunda e retornando à normalidade na quarta semana. Outra descrição menciona que poedeiras comerciais desafiadas de 10 semanas de idade não apresentaram comprometimento na produção de ovos.

O período de incubação é variável e depende de vários fatores. Os principais são: mecanismo de transmissão, patogenicidade da amostra e dose infectante. Em caso de sinovite infecciosa, o período de incubação foi de 6 dias quando da transmissão vertical e de 10 a 20 dias na transmissão horizontal. Experimentalmente tem sido observado período de incubação de 2 a 10 dias quando inoculado no

coxim plantar, 7 a 10 dias por via intravenosa, e até 20 dias na inoculação intrassínus ou conjuntiva ocular. Ocasionalmente a presença de anticorpos pode preceder o aparecimento dos sinais clínicos.

A morbidade em galinhas com sinais de sinovite pode variar de 1% a 75%, porém a mortalidade dificilmente ultrapassa 1%. No Brasil, a grande maioria dos lotes de matrizes e frangos MS positivos não apresentam mortalidade. Tanto a mortalidade como a morbidade podem ser significativamente alteradas quando ocorre infecção secundária, principalmente por agentes envolvidos em sinovites e aerossaculite. Além disso, nos casos de sinovite, a mortalidade pode ser baixa, mas descartes por dificuldade de locomoção podem ser de 1% a 10%, e superior em alguns casos. Em perus, a morbidade oscila entre 1% e 20%, e a mortalidade pode ser alta quando há casos de sinovite complicados. Há relatos de 9% de mortalidade em granjas da Califórnia, nos Estados Unidos.

7.1 Diagnóstico

7.1.1 Diagnóstico presuntivo

Presuntivamente, o diagnóstico de MS pode ser realizado com base na observação de lesões articulares, dificuldade de locomoção, sinais respiratórios, ligeira queda de produção, pequeno aumento de condenações no abatedouro e histórico geral do lote e da granja. Porém, a confirmação da doença só pode ser conduzida com apoio laboratorial pela observação do agente ou pelo seu isolamento e identificação. Pelo fato de muitas cepas de campo não induzirem ao aparecimento de sinais clínicos, nem redução de desempenho, as evidências iniciais da infecção ficam comprometidas. Nesses casos o monitoramento sorológico pode indicar a circulação do agente no lote mesmo na ausência de sinais clínicos.

7.1.2 Diagnóstico clínico

Na forma clássica da infecção por MS, que era mais frequente no passado, podem-se observar: sinovite, edema da articulação tibiotarso com o metatarso e do coxim plantar, claudicação, dificuldade de locomoção, perda do peso corporal, eventual presença de calo no peito, desidratação devido à redução do consumo de água, ocasional

palidez da crista e retardo do crescimento. Quando o quadro é mais severo, as aves se recuperam lentamente, e em algumas a sinovite persiste por toda a vida. Os sinais respiratórios tendem a não ser graves, a menos que ocorra complicação que resulta em condenação de carcaças no abatedouro em caso de frangos e perus de corte.

É importante ressaltar que mais recentemente aves infectadas por MS (matrizes de corte, frangos, perus e postura comercial) não têm manifestado sinais clínicos ou, quando presentes, são muito discretos e podem passar despercebidos. Atualmente, grande parte do plantel brasileiro está infectada com amostras de baixa patogenicidade e por muitas apatogênicas, que não determinam aparecimento de sinais clínicos. Os quadros respiratórios, quando aparecem, são brandos. A mortalidade geralmente é nula ou muito baixa (inferior a 1%) e ocasionalmente pode variar de 2% a 10% quando da ocorrência de infecções secundárias, coinfeções, ou quando em ambiente e manejo deficitários. Na infecção aguda pode ocorrer ligeira e temporária queda de produção de ovos.

Em perus a manifestação clínica respiratória é muito semelhante à das galinhas, embora sinais de comprometimento articular sejam mais frequentes em uma ou mais articulações e somente nas severamente afetadas há comprometimento do consumo de ração e do ganho de peso.

FOTOS: MERCOLAB



Matriz de corte (recria) infectada de *Mycoplasma synoviae*. Membro da esquerda com articulação tibiotársica aumentada de volume e da direita com aparência normal.

Pata de frango com edema do coxim plantar, ocasionalmente observado em infecções pelo *Mycoplasma synoviae*.



7.1.3 Lesões macroscópicas

Em caso clássico de infecção por MS a lesão mais evidente é o edema de articulação. A mais frequentemente acometida é a tibiotársica (articulação do tibiotarso com o tarsometatarso), seguida da articulação do coxim plantar. Geralmente é unilateral e eventualmente bilateral. Esta se apresenta inflamada (discreta a muito severa), com acúmulo de exsudato viscoso nas membranas sinoviais, nos tendões e na articulação como um todo. O exsudato inflamatório no início é de aspecto claro e transparente e, com o progredir da doença, torna-se viscoso e opaco como resultado da invasão bacteriana secundária, geralmente *Staphylococcus* e *E. coli*. As articulações da asa e a bolsa do esterno podem apresentar lesões semelhantes, porém com menor frequência. Ocasionalmente e de forma pouco acentuada, no início da infecção podem-se observar hepato e esplenomegalia e os rins podem estar também aumentados de volume e com coloração pálida.

Outra manifestação que pode ser observada em caso de infecção por MS é a aerossaculite. Nesse caso, ocorre acúmulo de exsudato inflamatório nos sacos aéreos, e na traqueia se observa hiperemia com presença de muco. Embora menos intensas, as lesões dos sacos aéreos podem ser similares às aquelas causadas por MG. São mais dependentes de infecções secundárias que da própria patogenicidade do MS. Em frangos de corte ocasionalmente ocorre um quadro conhecido como "aerossaculite silenciosa", observada em abatedouros, e pode resultar em condenações de carcaças, dependendo da infecção secundária.

Pata de frango com edema e presença de material caseoso, causado pelo *Mycoplasma synoviae* e complicado por infecção secundária.



Em perus, as alterações no trato respiratório são variáveis e a forma articular apresenta severidade inferior àquela observada em galinhas.

Nos últimos anos tem-se observado que a vasta maioria dos casos de infecção por MS em galinhas (matrizes e frangos de corte) não apresentam alterações patológicas macroscópicas. A maioria das cepas são apatogênicas.

7.1.4 Lesões microscópicas

Nas articulações acometidas observa-se exsudação e deposição de fibrina, com acúmulo de heterófilos nos espaços articulares ao redor dos tendões. As membranas sinoviais estão hiperplásicas, com infiltração de linfócitos e macrófagos. Nos sacos aéreos podem ocorrer lesões discretas de edema, presença de heterófilos, acúmulo de tecido necrótico a lesões mais severas de hiperplasia epitelial, infiltrado mononuclear e necrose caseosa. Também se podem observar hiperplasia de células reticuloendoteliais na bainha periarteriolar do baço e infiltração linfocitária no fígado e coração. Estas últimas lesões nem sempre têm sido constatadas.

7.1.5 Diagnóstico laboratorial direto

O diagnóstico laboratorial direto clássico é conduzido pelo isolamento e identificação do MS. Sempre que possível, colher as amostras no início da infecção. O MS é facilmente isolado da traqueia e do exsudato das articulações. Nos casos crônicos e em situações em que há apenas manifestação de sinais respiratórios, proceder à coleta de amostras de seios nasais, traqueia, pulmão, e de sacos aéreos, se houver alteração. As condições de isolamento em meios de cultura, tempo de incubação e critérios de identificação são muito similares aos utilizados para MG e, para tanto, consultar o subitem "Diagnóstico" (página 206) para mais detalhes. Porém, há uma diferença básica para o isolamento do MS, ou seja, deve ser adicionado ao meio de cultura, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e cisteína. Quando da utilização de antissoros para identificação das colônias, esses devem conter anticorpos específicos para MS.

A presença ou envolvimento do MS também pode ser confirmado por técnicas de biologia molecular, como a reação em cadeia

pela polimerase (PCR), que é frequentemente utilizada a partir das mesmas amostras ou tecidos colhidos para isolamento. Essa técnica apresenta alta sensibilidade e o diagnóstico pode ser emitido em 24 horas, tempo bem menor requerido pelo isolamento (dias ou semanas). Um aspecto favorável do PCR é a possibilidade de a infecção poder ser detectada até duas semanas antes da soroconversão e até mesmo antes do aparecimento de sinais clínicos.

Tal como se procede com MG, é importante considerar que, ao se suspeitar de MS, e a intervenção ocorrendo no início do quadro clínico, o procedimento indicado é a identificação do agente recorrendo-se ao isolamento ou prova de PCR. Caso já tenham decorrido duas a três semanas após o início do processo, pode-se tentar a identificação do agente, mas a soroconversão que se instala nesse período torna recomendável a aplicação de provas sorológicas.

A infecção por MS deve ser diferenciada da infecção por MG e de artrites causadas por bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Pasteurella*, *Salmonella*, *E. coli* e *Reovirus*. Em se tratando de quadro respiratório, diferenciar de doenças como bronquite infecciosa, doença de Newcastle, pneumovírus ou reações quando da vacinação contra essas doenças ou de condições de criação, como erros de manejo, ventilação deficiente e excesso de amônia e pó.

7.1.6 Diagnóstico laboratorial indireto

O uso de testes sorológicos tem sido bastante comum como ferramenta para diagnóstico indireto ou complemento de diagnóstico. Este se fundamenta na detecção de anticorpos. Da mesma forma que para MG, os testes mais usados para detecção de anticorpos para MS são: soroaglutinação rápida (SAR), inibição da hemaglutinação (HI) e teste imunoenzimático (ELISA). Suas características e detalhes de interpretação são as mesmas anteriormente apresentadas no item sobre MG. É importante ressaltar que a resposta imunogênica para MS é lenta, ocorrendo em duas a quatro semanas, dependendo da dose desafio e possivelmente da amostra envolvida. Perus que apresentam apenas quadro respiratório por MS, podem apresentar uma resposta fraca em decorrência da baixa concentração de anticorpos. Geralmente o teste de SAR não detecta a infecção ou o faz por um período muito curto, sendo a HI ou o ELISA os mais indicados, ou deve-se recorrer à caracterização molecular pela

prova de PCR ou ao isolamento. Perus que se infectaram sistemicamente desenvolveram elevados títulos de anticorpos.

Os diversos antígenos aglutinantes comercialmente disponíveis variam em sensibilidade, ou seja, na capacidade de detectar aglutininas. Os que têm alta sensibilidade podem gerar mais falso-positivos. A vacinação com adjuvante oleoso e principalmente as bacterinas, tanto em galinhas como em perus, aumentam as reações inespecíficas, principalmente no SAR.

8 Epidemiologia

A infecção das aves por MS pode ocorrer de duas formas clássicas: vertical ou horizontal. Reprodutoras infectadas transmitem verticalmente para a progênie. No caso da infecção horizontal, aves negativas podem se infectar por contato indireto com o micoplasma por inalação de aerossóis, fômites, equipamentos ou veículos contaminados, homem através de vestimentas e materiais de uso rotineiro. O contato pode ser direto quando há proximidade com aves infectadas. A transmissão de ave para ave é muito efetivo. Apesar de o MS também comprometer as articulações, a via respiratória continua sendo uma porta importante da infecção.

As estirpes de MS apresentam patogenicidade e tropismo variados para a articulação e trato respiratório. Muitas delas apresentam baixa patogenicidade, causando apenas infecção e induzindo à produção de anticorpos, sem sinais clínicos. O MS pode ser isolado das secreções respiratórias de aves uma a quatro semanas após contato com aves infectadas. A disseminação pode ocorrer facilmente entre aves alojadas em diferentes gaiolas de um mesmo galpão.

A severidade do quadro respiratório (aerossaculite) causado pelo MS depende da virulência da amostra e do tipo de agente secundário. As infecções secundárias na maioria das vezes estão associadas a agentes, como o vírus lentogênico da doença de Newcastle, da bronquite infecciosa, *E. coli* e condições ambientais envolvendo manejo inadequado, ventilação deficiente e excesso de amônia e poeira. Nas articulações, além da *E. coli*, o *Staphylococcus aureus* encontra-se frequentemente presente, agravando o quadro. Perus que nascem de lotes positivos podem apresentar aerossaculite no primeiro dia de vida.

Em um lote infectado somente uma pequena percentagem de ovos está contaminada com micoplasma, e na maioria deles isso ocorre na fase inicial da infecção.

Existem situações em que pintinhos manifestam sinais clínicos nos primeiros dias de vida; outros nunca manifestam. É comum matrizes de corte positivas para MS produzirem pintinhos que chegam à idade de abate isentos de anticorpos e sem sinais da doença. Quando a infecção na matriz de corte ocorre durante a produção, a taxa de transmissão via ovo tende a ser maior nas primeiras quatro a seis semanas. Dessa idade em diante a transmissão vertical diminui, mas mesmo assim no lote permanecem os portadores que podem disseminar MS a qualquer momento. O uso de antibióticos minimiza a eliminação.

A disseminação e a persistência do MS em um plantel seguem um padrão muito similar ao do MG, diferindo na velocidade, que é mais rápida para o MS, sendo dependente acima de tudo da cepa, dose infectante e concentração de aves.

Reprodutoras comerciais infectadas durante a fase de produção transmitem para a progênie durante as primeiras quatro a seis semanas após a infecção; depois desse período praticamente cessa a transmissão, mas ocasionalmente o MS pode ser eliminado.

Em condições de infecção natural e experimental em galinhas e perus foram examinadas amostras de alimentos, água de bebida, penas, fezes e poeira pela prova de PCR. Os resultados obtidos para infecção experimental foram 10 positivas para 96 analisadas em galinhas e 46 positivas para 96 analisadas em perus. Em condições de campo os resultados foram 7 positivas em 28 analisadas. Esses dados revelam a alta capacidade de disseminação do agente no meio ambiente e a utilidade da prova de PCR.

8.1 Cadeia epidemiológica

8.1.1 As fontes de infecção

A principal fonte de infecção são as aves doentes; depois, as portadoras sadias; e eventualmente algumas aves que atuam como reservatórios.

8.1.2 As vias de eliminação

O MS se elimina principalmente pelas secreções oronasais e no caso de reprodutores pelo ovo e pelo sêmen.

8.1.3 As vias de transmissão

A via principal de transmissão é o contato direto ou indireto através de aerossóis, alimentos, água, penas, ambiente e aves contaminadas. No caso de reprodutoras, ocorre transmissão transovariana e pelo sêmen.

8.1.4 Porta de entrada

As duas grandes portas de entradas são o ovo e a mucosa oronasal.

8.2 Profilaxia

8.2.1 Tratamento

Os princípios gerais para tratamento, controle e prevenção de MS são semelhantes aos descritos para MG (ver item sobre MG, na página 196). Ressalte-se que nos casos de sinovite o tratamento é mais eficiente quando realizado no início da infecção do que após a instalação do quadro típico de tenossinovite. Quando possível, a aplicação parenteral de antibióticos é mais efetiva que a administração via água. Experiências de campo têm demonstrado que a clortetraciclina administrada continuamente sob forma de premix permite a prevenção satisfatória da sinovite em galinhas. Lincomicina-espectinomicina pode ser usada profilaticamente para aerossaculite em frangos de corte e perus jovens. Tiamulina na água de bebida tem revelado eficácia na prevenção da aerossaculite e sinovite em pintos. Outros produtos não têm sido suficientemente avaliados para MS, exceto as drogas mais específicas, como tilosina, tiamulina, tilmicosina e avilosina. A sensibilidade geral aos antibióticos é idêntica entre MS e MG. Uma ressalva para eritromicina, que não apresenta resultados muito bons para MS.

Não existem relatos de resistência adquirida aos antibióticos pelo MS, a despeito de os primeiros isolados terem se apresentado menos sensíveis que os mais recentes. Profilaxia medicamentosa

parece ser eficaz na prevenção de sinovite e aerossaculite, mas pouco eficaz no tratamento principalmente de lesões já instaladas. Sendo a patogenicidade do MS inferior quando comparado com MG, raramente são administrados antibióticos para frangos de corte.

8.2.2 Controle e prevenção

Da mesma forma que para o tratamento, os princípios de controle e prevenção para MS são basicamente os mesmos descritos para MG. Fundamentam-se em adquirir aves livres e, pelas medidas de biosseguridade, mantê-las livres por toda a vida produtiva. Essa tem sido a estratégia que a avicultura de corte de galinhas e perus tem usado. No caso das aves de postura comercial, a estratégia é a mesma, mas, devido à criação em idade múltipla, altas concentrações de aves e falta de biosseguridade, a infecção encontra-se mais difundida e o uso de vacina tem sido frequente. No caso de infecção por MS, não é rotina eliminar reprodutoras, como nos casos de MG.

Na Austrália foi desenvolvida uma vacina viva que é bastante utilizada em diferentes partes do mundo. Trata-se de uma cepa sensível à temperatura (MS-H), que se multiplica no trato respiratório superior da ave sem invadir os sacos aéreos ou articulações. Estimula a produção de anticorpos circulantes de forma que as aves vacinadas reagem aos testes sorológicos da mesma forma que as aves naturalmente infectadas. Esse fato dificulta os procedimentos de controle e de monitoria dos programas de erradicação. Existe também bactéria oleosa que eventualmente pode ser usada para reduzir a transmissão vertical. Para matrizes de corte não há aprovação de vacinas vivas ou inativadas; porém, para postura comercial, a MS-H está aprovada no Brasil e tem sido utilizada.

Como o MS é transmitido via ovo, a forma mais efetiva de controle e prevenção é a eliminação dos lotes positivos e a repopulação da granja com aves livres. É importante adotar medidas rigorosas de biosseguridade para prevenir a introdução e transmissão horizontal do MS. Recomenda-se o monitoramento periódico das reprodutoras e poedeiras comerciais através de provas sorológicas. Da mesma forma que para outros micoplasmas, a introdução do MS em granja livre ocorre através de materiais e equipamentos contaminados ou pessoas que entraram em contato com aves infectadas. Historicamente, funcionários e técnicos da própria granja são os principais

carreadores do MS. Sempre que operadores da granja entrarem em contato com aves de outras granjas ou de fundo de quintal aumentam as oportunidades de carreamento do MS e de outros patógenos. Isolamento da granja, controle de visitas, banho com troca de roupa, limpeza e desinfecção de veículos, de fômites e equipamentos, prevenção da entrada de aves silvestres são procedimentos indispensáveis para minimizar os riscos.

A ênfase na biossegurança para o controle e prevenção é reforçada pelas restrições aos antibióticos que os consumidores mais exigentes estão impondo. A preocupação é com a transferência de resistência à bactéria que causa infecção para humanos. Essas restrições têm gerado regulamentações quanto aos resíduos de antibióticos em alimentos e vêm sendo implementadas de forma universal. Assim, o uso de antibióticos no controle de MS em plantéis comerciais se torna cada vez menos viável. A vacinação com bacterinas oferece proteção limitada e não elimina o agente etiológico do organismo das aves vacinadas, que permanecem como portadores. As vacinas com bactérias vivas oferecem melhor proteção, mas não eliminam a infecção e inviabilizam o monitoramento do plantel de aves. Ambas as vacinas, mortas e atenuadas, são proibidas em reprodutoras pesadas no Brasil e permitidas apenas para postura comercial.

Legislação

Dentro de um contexto global, as micoplasmoses têm importância significativa na produção e comercialização das aves. Por causa disso existe uma legislação federal que trata do monitoramento e da certificação dos plantéis. Essa legislação faz parte do Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) e contempla os três micoplasmas mais importantes para a avicultura comercial: *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *Mycoplasma synoviae* (MS) e *Mycoplasma meleagridis* (MM). Trata-se da Instrução Normativa nº 44, de 23/8/2000, que estabelece as normas técnicas para o controle e a certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas para a micoplasmose aviária.

1. Esta Instrução Normativa nº 44 define as normas e medidas de monitoramento da micoplasmose em estabelecimentos avícolas de controles permanentes e eventuais (exceto postura comercial, frango de corte e ratitas) que realizam o comércio ou a transferência nacional e internacional de seus produtos, destinados à reprodução e produção de aves e de ovos férteis, ficando os mesmos obrigados a realizarem o monitoramento de seus plantéis, obedecendo às diretrizes do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA).
2. Para realizar o comércio internacional, o estabelecimento avícola deverá estar certificado como livre de micoplasmose aviária (MG, MS e MM), conforme estabelecido na legislação.
3. Os estabelecimentos importadores ou compradores de material genético de linhas puras, bisavós e avós deverão obter previamente a garantia ou a certificação da origem como livre de micoplasmas, de que tratam estas normas.

A certificação é concedida para linhas puras, bisavós, avós e matrizes, de acordo com o seguinte critério:

1. Certificação dos núcleos ou estabelecimentos avícolas para linhas puras, bisavós e avós:

- 1.1. Livres de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* para galinhas.
- 1.2. Livres de *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* e *Mycoplasma meleagridis* para perus.

2. Certificação dos núcleos (estabelecimentos avícolas de matrizes):

- 2.1. Livres de *Mycoplasma gallisepticum* para galinhas.
- 2.2. Livres de *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* e *Mycoplasma meleagridis* para perus.
- 2.3. Sob vigilância e acompanhamento para *Mycoplasma synoviae* para galinhas.

A íntegra dessa legislação poderá ser obtida diretamente no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ou pelo site <www.agricultura.gov.br>.

Referências bibliográficas

- ABDE-EL-MOTELIB, T. Y.; KLEVEN, S. H. "A comparative study of *Mycoplasma gallisepticum* vaccines in young chickens". *Avian Disease*, v. 37, 1993, pp. 981-987.
- ADLER, H. E.; YAMAMOTO, R.; BERG, J. "Strain differences of pleuropneumonia-like organisms of avian origin". *Avian Disease*, v. 1, 1957, pp. 19-27.
- AMERICAN ASSOCIATION OF AVIAN PATHOLOGIST. "Mycoplasmosis", in: CHARTON, B. R. (ed.). 6ª ed. *Avian Disease Manual*, 2006, pp. 93-103.
- AVAKIAN, A. P.; LEY, D. H.; MCBRIDE, M. A. "Humoral immune response of turkeys to strain S6 and a variant *Mycoplasma gallisepticum* studied by immunoblotting". *Avian Disease*, v. 26, 1992, pp. 69-77.
- AYCARDI, E. R.; ANDERSON, D. P.; HANSON, R. P. "Classification of avian *Mycoplasmas* by gel diffusion and growth inhibition tests". *Avian Disease*, v. 15, 1971, pp. 434-447.
- BACK, A. "Manual de doenças das aves", in: *Micoplasmoses*. 1ª ed. Cascavel: Coluna do Saber, 2006, pp. 45-51.
- BARBOUR, E. K.; NEWMAN, J. A.; SIVANANDAN, V.; HALVORSON, D. A.; SASIPREEYAJAN, J. "Protection and immunity in commercial chicken layers administered *Mycoplasma gallisepticum* liposomal bacterins". *Avian Disease*, v. 31, 1987, pp. 723-729.
- BENTON, W. J.; COVER, M. S.; MELCHIOR, F. W. "*Mycoplasma gallisepticum* in a commercial laryngotracheitis vaccine". *Avian Disease*, v. 11, 1967, pp. 426-429.
- BLAHA, T. *Epidemiologia especial veterinária*. 1ª ed. São Paulo: Acribia, 1995.
- BRADBURY, J. M.; ABDUL-WAHAB, O. M.; YAVARI, C. A.; DUPIELLET, J. P.; BOVE, J. M. "*Mycoplasma imitans* sp. Nov. is related to *Mycoplasma gallisepticum* and found in birds". *International Journal of Systematic Bacteriology*, v. 43, 1993, pp. 721-728.
- BRADBURY, J. M.; MCCLENAGHAN, M. "Detection of Mixed *Mycoplasma* Species". *Journal of clinical Microbiology*, v. 16, 1982, pp. 314-318.
- BRANTON, S. L.; DEATON, J. W. "Egg production, egg weight, eggshell strength, and mortality in three strains of commercial layers vaccinated with F strain *Mycoplasma gallisepticum*". *Avian Disease*, v. 29, 1985, pp. 832-837.
- BRANTON, S. L.; GERLACH, H.; KLEVEN, S. H. "*Mycoplasma gallisepticum* isolation in layers". *Poultry Science*, v. 63, 1984, pp. 1.917-1.919.
- BRANTON, S. L.; LOTT, B. D.; DEATON, J. W.; HARDIN, J. M.; MASLIN, W. R. "F-strain *Mycoplasma gallisepticum* vaccination of post-production-peak commercial leghorns and its effect on egg and eggshell quality". *Avian Disease*, v. 32, 1988, pp. 304-307.
- BRASIL - MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 44, de 23 de agosto de 2001.

- CARPENTER, T. E.; MALLINSON, E. T.; MILLER, K. F.; GEN-TRY, R. F.; SCHWARTZ, L. D. "Vaccination with F-strain *Mycoplasma gallisepticum* to reduce production losses in layer chickens". *Avian Disease*, v. 25, 1981, pp. 404-409.
- CHANDIRAMANI, N. K.; VAN ROEKEL, H.; OLESIU, O. M. "Viability studies with *Mycoplasma gallisepticum* under different environmental conditions". *Poultry Science*, v. 45, 1966, pp. 1.029-1.044.
- CHRISTIANSEN, K. H.; HIRD, D. W.; SNIPES, K. P.; DANAYE-ELMI, C.; PALMER, C. W.; MC BRIDE, M. D.; UTTERBACK, W. W. "California National Animal Health Monitoring System for meat turkey flocks 1980-89 pilot study: management practices, flock health, and production". *Avian Disease*, v. 40, n° 2, 1996, pp. 278-284.
- DINGFELDER, R. S.; LEY, D. H.; MCLAREN, J. M.; BROWNIE, C. "Experimental infection of turkeys with *Mycoplasma gallisepticum* of low virulence, transmissibility and immunogenicity". *Avian Disease*, v. 35, 1991, pp. 910-919.
- DOHMS, J. E.; HNATOW, L. L.; WHETZEL, P.; MORGAN, R.; KEELER, C. L. "Identification of the putative cytoadhesin gene of *Mycoplasma gallisepticum* and its use as a DNA probe". *Avian Disease*, v. 37, 1993, pp. 380-388.
- ELFAKI, M. G.; KLEVEN, S. H.; JIN, L. H.; RAGLAND, W. L. "Protection against airsacculitis with sequential systemic and local immunization of chickens using killed *Mycoplasma gallisepticum* bacterin with isotactate adjuvant". *Vaccine*, v. 11, 1993, pp. 311-317.
- ELFAKI, M. G.; KLEVEN, S. H.; JIN, L. H.; RAGLAND, W. L. "Sequential intracoelemic and intrabursal immunization of chickens with inactivated *Mycoplasma gallisepticum* bacterin and iota carrageenan adjuvant". *Vaccine*, v. 10, 1992, pp. 655-662.
- EVANS, R. D.; HAFEZ, Y. S. "Evaluation of a *Mycoplasma gallisepticum* strain exhibiting reduced virulence for prevention and control of poultry mycoplasmosis". *Avian Disease*, v. 36, 1992, pp. 197-201.
- EWING, M. L.; LAUERMAN, L. H.; KLEVEN, S. H.; BROWN, M. B. "Evaluation of diagnostic procedures to detect *Mycoplasma synoviae* in commercial multiplier-breeder farms and commercial hatcheries in Florida". *Avian Disease*, v. 40, 1996, pp. 798-806.
- FABRICANT, J. "A re-evaluation of the use of media for the isolation of pleuropneumonia-like organisms of avian origin". *Avian Disease*, v. 2, 1958, pp. 409-417.
- FABRICANT, J.; LEVINE, P. P. "Infection in young chickens for the prevention of egg transmission of *Mycoplasma gallisepticum* in breeders". *Proceedings. 17th World Vet. Congr.* 1963, pp. 1.469-1.474.
- FERNADEZ, C.; MATTSSON, J. G.; BOLSKE, G.; LEVISOHN, S.; JOHANSSON, K. E. "Species-specific oligonucleotide probes complementary to 16S RNA of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*". *Research in Veterinary Science*, v. 55, 1993, pp. 130-136.
- FIORENTIN, L.; JEANISCH, F. R. F.; FIALHO, F. "Patogenicidade de *Mycoplasma gallisepticum* Isolados no Brasil". *Anais. Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia*. Campinas, 2004, pp. 87-88.

- GLISSON, J. R.; KLEVEN, S. H. "Mycoplasma gallisepticum vaccination: Effects on egg transmission and egg production". *Avian Disease*, v. 28, 1984, pp. 406-415.
- GROSS, W. B. "The development of 'air sac disease'". *Avian Disease*, v. 5, 1961, pp. 431-439.
- HAGEN, C. A.; CRUPPER, S. S.; APPLGATE, R. D.; ROBEL, R. J. "Prevalence of mycoplasma antibodies in lesser prairie-chicken sera". *Avian Disease*, v. 46, nº 3, 2002, pp. 708-712.
- HILDEBRAND, D. G.; PAGE, D. E.; BERG, J. R. "Mycoplasma gallisepticum - Laboratory and field studies evaluating the safety and efficacy of an inactivated MG Bacterin". *Avian Disease*, v. 27, 1983, pp. 792-802.
- HITCHNER, S. B.; DOMERMUTH, C. H.; PURCHASE, G. WILLIAMS, J. E. *Isolation and Identification of Avian pathogens*. 2ª ed. American Association of Avian Pathologists, 1980.
- HOFSTAD, M. S. "Chronic respiratory disease", in: BIESTER, H. E.; SCHWARTE, L. H. 4ª ed. *Diseases of poultry*. Iowa: Iowa State University Press, 1959, pp. 320-330.
- HYMAN, H. C.; LEVISOHN, S.; YOGEV, D.; RAZIN, S. "DNA probes for Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae: Application in experimentally infected chickens". *Veterinary Microbiology*, v. 20, 1989, pp. 232-337.
- IMADA, Y.; NONOMURA, I.; HAYASHI, S.; TSURUBUCHI, S. "Immunoperoxidase technique for identification of Mycoplasma gallisepticum and M. synoviae". *National Institute of Animal Health Quarterly (Tôquio)*, v. 19, 1979, pp. 40-46.
- JORDAN, F. T. "Immunity to mycoplasma infections of the respiratory system in the domestic fowl and turkey". *Developments in Biological Standardization*, v. 28, 1975, pp. 590-596.
- , "Mycoplasmosis in poultry". *Israel Journal of Medical Sciences*, v. 17, nº 7, 1981, pp. 540-547.
- JUNGHERR, E. L.; LUGINBUHL, R. E.; TOURTELLOTE, M.; BURR, W. E. "Significance of serological testing for chronic respiratory disease". *Proceedings. 92nd Annu. Meet. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1955, pp. 315-321.
- KARACA, K.; LAM, K. M. "Efficacy of commercial Mycoplasma gallisepticum bacterin (MG-Bac) in preventing air-sac lesions in chickens". *Avian Disease*, v. 31, 1987, pp. 202-203.
- KELLY, P. J.; CHITAURO, D.; ROHDE, C.; RUKWAVA, J.; MAJOK, A.; DAVELAAR, F.; MASON, P. R. "Diseases and management of backyard chicken flocks in Chitungwiza, Zimbabwe". *Avian Disease*, v. 38, nº 2, 1994, pp. 626-629.
- KHAN, M. I.; KIRKPATRICK, B. C.; YAMAMOTO, R. A Mycoplasma gallisepticum strain-specific DNA probe. *Avian Disease*, v. 31, 1987, pp. 907-909.
- KHAN, M. I.; KLEVEN, S. H. "Detection of Mycoplasma gallisepticum infection in field samples using a species-specific DNA probe". *Avian Disease*, v. 37, 1993, pp. 880-883.

- KHAN, M. I.; McMARTIN, D. A.; YAMAMOTO, Y.; ORIMAYER, H. B. "Observations on commercial layers vaccinated with Mycoplasma gallisepticum (MG) bacterin on a multiple-age site endemically infected with MG". *Avian Disease*, v. 30, 1986, pp. 309-312.
- KLEVEN, S. H. "Mycoplasmosis", in: DUFOR-ZAVALLA, Louise (ed.). 5th ed. *A laboratory manual for the isolation, identification and characterization of avian pathogen*. American Association of Avian Pathologist, 2008, pp. 59-64.
- KLEVEN, S. H.; KHAN, M. I.; YAMAMOTO, R. "Fingerprinting of Mycoplasma gallisepticum strains isolated from multiple layers vaccinated with live F strain". *Avian Disease*, v. 34, 1990, pp. 984-990.
- KLEVEN, S. H.; FERGUSON-NOEL, N. "Mycoplasma synoviae infection", in: SAIF, Y. M. (ed.). 12th ed. *Disease of Poultry*. Ames Iowa: Blackwell Publishing, 2008, pp. 845-856.
- KLEVEN, S. H.; ROULAND, G. N.; KUMAR, M. C. "Poor Serological Response to Upper Respiratory Infection with Mycoplasma synoviae in Turkeys". *Avian Disease*, v. 45, 2001, pp. 719-723.
- KLEVEN, S. H.; YODER Jr., H. W. "Mycoplasmosis", in: PURCHASE, H. G.; ARP, L. H.; DOMERMUTH, C. H.; PEARSON, J. E. 3rd ed. *A laboratory manual for the isolation of avian pathogen*. Kennett Square: American Association of Avian Pathologists, 1989, pp. 57-62.
- KLEVEN, S. H. "Transmissibility of the F-strain of Mycoplasma gallisepticum in leghorn chickens". *Avian Disease*, v. 25, 1981, pp. 1.005-1.018.
- KREIG, N. R.; HOLT, J. G. 9th ed. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams and Williams: Baltimore, 1984, pp. 740-793.
- LEVISOHN, S.; DYKSTRA, M. J. "A quantitative study of single and mixed infection of the chicken trachea by Mycoplasma gallisepticum". *Avian Disease*, v. 31, 1987, pp. 1-12.
- LEVISOHN, S.; GLISSON, J. R.; KLEVEN, S. H. "In Ovo pathogenicity of Mycoplasma gallisepticum strains in the presence and absence of maternal antibody". *Avian Disease*, v. 29, 1985, pp. 188-197.
- LEY, D. H. "Mycoplasma gallisepticum Infection", in: SAIF, Y. M. (ed.). 12th ed. *Disease of Poultry*. Ames Iowa: Blackwell Publishing, 2008, pp. 807-833.
- LEY, D. H.; AVAKIAN, A. P.; BERKHOF, J. E. "Clinical Mycoplasma gallisepticum infection in multiplier breeder and meat turkeys caused by F strain: Identification by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, restriction endonuclease analysis, and the polymerase chain reaction". *Avian Disease*, v. 37, 1993, pp. 854-862.
- LEY, D. H.; YODER Jr., H. W. "Mycoplasma gallisepticum infection", in: CALNEK, B. W. 11th ed. *Diseases of Poultry*. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 2003, pp. 194-207.
- LIN, M. Y.; KLEVEN, S. H. "Pathogenicity of two strains of Mycoplasma gallisepticum in turkeys". *Avian Disease*, v. 26, 1982, pp. 360-364.

- LUGINBUHL, R. E.; TOURTELLOTE, M. E.; FRAZIER, M. N. "Mycoplasma gallisepticum-control by immunization". *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 143, 1967, pp. 234-238.
- LUTRELL, M. P.; STALLKNETCHT, D. E.; KLEVEN, S. H.; KAVANAUGH, D. M.; CORN, J. L.; FISCHER, J. R. "Mycoplasma gallisepticum in house finches (*Carpodacus mexicanus*) and other wild birds associated with poultry production facilities". *Avian Disease*, v. 45, 2001, pp. 321-329.
- MALLINSON, E. T.; ROSENSTEIN, M. "Clinical, cultural, and serologic observations of avian mycoplasmosis in two chicken breeder flocks". *Avian Disease*, v. 20, 1976, pp. 211-215.
- MCBRIDE, M. D.; HIRD, D. W.; CARPENTER, T. E.; SNIPES, K. P.; DANAYE-ELMI, C.; UTTERBACK, W. W. "Health survey of backyard poultry and other avian species located within one mile of commercial California meat-turkey flocks". *Avian Disease*, v. 35, 1991, pp. 403-407.
- McMARTIN, D. A.; KHAN, M. I.; FARVER, T. B.; CHRISTIE, G. "Delineation of lateral spread of Mycoplasma gallisepticum infection in chickens". *Avian Disease*, v. 31, 1987, pp. 814-819.
- MOHAMMED, H. O.; CARPENTER, T. E.; YAMAMOTO, R. "Economic impact of Mycoplasma gallisepticum and M. synoviae in commercial layer flocks". *Avian Disease*, v. 31, 1987, pp. 477-482.
- MOHAMMED, H. O.; YAMAMOTO, R.; CARPENTER, T. E.; ORTMAYER, H. B. "Comparison of egg yolk and serum for the detection of Mycoplasma gallisepticum and M. synoviae antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay". *Avian Disease*, v. 30, 1986, pp. 398-408.
- MORSE, J. W.; BOOTHBY, J. T.; YAMAMOTO, R. "Detection of Mycoplasma gallisepticum by direct immunofluorescence using a species-specific monoclonal antibody". *Avian Disease*, v. 30, 1986, pp. 204-206.
- NASCIMENTO, F. R.; PEREIRA, V. L. A. "Micoplasmoses", in: *Doenças das aves*. BERCHIERI Jr., A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTEI, L.; ZUANAZE, M. A. F. 2ª ed. Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia (Facta), 2009, pp. 485-500.
- NASCIMENTO, E. R.; PÓLO, P. A.; PEREIRA, V. L. A.; BARRETO, M. L.; NASCIMENTO, M. G. F.; ZUANAZE, M. A. F.; SILVA, R. C. F. "Serological Response of SPF Chickens to Live Vaccines and other Strain of *Mycoplasma gallisepticum*". *Brazilian Journal of Poultry Science*, v. 8, 2005, pp. 45-50.
- NASCIMENTO, E. R.; YAMAMOTO, R.; HERRICK, K. R.; TAIT, R. C. "Polymerase chain reaction for detection of Mycoplasma gallisepticum". *Avian Disease*, v. 35, 1991, pp. 62-69.
- NONOMURA, I.; YODER Jr., H. W. "Identification of Avian Mycoplasma isolates by the agar gel precipitin test". *Avian Disease*, v. 21, 1977, pp. 370-381.
- OLESIUK, O. M.; VAN ROEKEL, H. "Cultural attributes of the chronic respiratory disease agent". Abstract. Proc. 24th Annu. Conf. Northeast Lab Workers in Pullorum disease Control, 1952.

- RIMLER, R. B.; DAVIS, R. B.; PAGE, R. K.; KLEVEN, S. H. "Infectious coryza. Preventing complicated coryza with *Haemophilus gallinarum* and *M. gallisepticum* bacterins". *Avian Disease*, v. 22, 1978, pp. 140-150.
- RODRIGUEZ, R.; KLEVEN, S. H. "Evaluation of a vaccine against *Mycoplasma gallisepticum* in commercial broilers". *Avian Disease*, v. 24, 1980, pp. 879-889.
- SANTHA, M.; BURG, K.; RASKO, I.; STIPKOVITS, L. "A species-specific DNA probe for the detection of *Mycoplasma gallisepticum*". *Infect. Immun.*, v. 5, 1987, pp. 2.857-2.859.
- SATO, S. "Avian mycoplasmosis in Asia". *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, v. 15, 1996, pp. 1.555-1.567.
- TALKINGTON, F. D.; KLEVEN, S. H. "A classification of laboratory strains of avian *Mycoplasma* serotypes by direct immunofluorescence". *Avian Disease*, v. 27, 1983, pp. 422-429.
- "Evaluation of protection against colonization of the trachea following administration of *Mycoplasma gallisepticum* bacteria". *Avian Disease*, v. 29, 1985, pp. 998-1003.
- "Research note: Additional information on the classification of avian *Mycoplasma* serotypes". *Avian Disease*, v. 28, 1984, pp. 278-280.
- TALKINGTON, F. D.; KLEVEN, S. H.; BROWN, J. "Na enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* in experimentally infected chickens". *Avian Disease*, v. 29, 1985, pp. 53-70.
- TANNER, A. C.; AVARIAN, A. P.; BARNES, H. J.; LEY, D. H.; MIGAKI, T. T.; MAGONIGLE, R. A. "A comparison of danofloxacin and tylosin in the control of induced *Mycoplasma gallisepticum* infection in broiler chicks". *Avian Disease*, v. 37, 1993, pp. 515-522.
- VAN DER HEIDE, L. "Vaccination can control costly chronic respiratory disease in poultry". *Res Report. Conn Storrs Agric Exp Stn.*, v. 47, 1977, p. 26.
- WHITHEAR, K. G. "Control of avian mycoplasmosis by vaccination". *Revue Scientifique Technique Office International des Epizooties*, v. 15, 1996, pp. 1.527-1.553.
- WHITHEAR, K. G.; SOERIPTO; HARRIGAN, K. E.; GHIOCAS, E. "Immunogenicity of a temperature sensitive mutant *Mycoplasma gallisepticum* vaccine". *Australian Veterinary Journal*, v. 67, 1990, pp. 168-174.
- "Safety of temperature sensitive mutant *Mycoplasma gallisepticum* vaccine". *Australian Veterinary Journal*, v. 67, 1990, pp. 159-165.
- YAGIHASHI, T.; NUNOYA, T.; SANNAI, S.; TAJIMA, M. "Comparison of immunity induced with a *Mycoplasma gallisepticum* bacterin between high-and low-responder lines of chickens". *Avian Disease*, v. 36, 1992, pp. 125-133.
- YAMAMOTO, R.; ADLER, H. E. "The effect of certain antibiotics and chemical agents on pleuropneumonia-like agents of avian origin". *American Journal of Veterinary Research*, v. 17, 1956, pp. 538-542.

- YODER Jr., H. W. "A historical account of the diagnosis and characterization of strains of *Mycoplasma gallisepticum* of low virulence". *Avian Disease*, v. 30, 1986, pp. 510-518.
- "Preincubation heat treatment of chicken hatching eggs to inactivate *Mycoplasma*". *Avian Disease*, v. 14, 1970, pp. 75-86.
- "Serologic response of chickens vaccinated with inactivated preparations of *Mycoplasma gallisepticum*". *Avian Disease*, v. 23, 1979, pp. 493-506.
- YODER Jr., H. W.; HOFSTAD, M. S. "Characterization of avian *Mycoplasma*". *Avian Disease*, v. 8, 1964, pp. 481-512.
- "Evaluation of tylosin in preventing egg transmission of *Mycoplasma gallisepticum* in chickens". *Avian Disease*, v. 9, 1965, pp. 291-301.
- YODER Jr., H. W.; HOPKINS, S. R. "Efficacy of experimental inactivated *Mycoplasma gallisepticum* oil-emulsion bacterin in egg layer chickens". *Avian Disease*, v. 29, 1985, pp. 322-334.
- YODER Jr., H. W.; HOPKINS, S. R.; MITCHELL, B. W. "Evaluation of inactivated *Mycoplasma gallisepticum* oil-emulsion bacterins for protection against airsacculitis in broilers". *Avian Disease*, v. 28, 1984, pp. 224-234.
- YOGEV, D.; LEVISOHN, S.; KLEVEN, S. H.; HALACHMI, D.; RAZIN, S. "Ribosomal RNA gene probes to detect intraspecies heterogeneity in *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae*". *Avian Disease*, v. 32, 1988, pp. 220-231.
- ZANDER, D. V. "Origin of S6 strain *Mycoplasma*". *Avian Disease*, v. 5, 1961, pp. 154-156.

Sobre os autores

Alberto Back é médico-veterinário, formado pela Universidade Federal de Santa Maria (RS); mestre, doutor e pós-doutor em microbiologia veterinária pela University of Minnesota (Estados Unidos).

Exerceu atividades em vários segmentos da indústria avícola, incluindo integração, matrizes, incubatório e laboratório. Possui dezenas de publicações científicas, livros e artigos em livros. É autor do primeiro *Manual de doenças de aves* publicado no Brasil, coautor do livro *Desordens do metabolismo em aves* e do *Guia de coleta e envio de materiais para diagnóstico laboratorial*. Possui ainda artigos nos livros: *Doenças das aves* e *Patologia aviária*.

Membro do corpo editorial da revista *Ciência Rural*, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), de 2002 a 2009. Membro do grupo de colaboradores científicos da FAO/OMSA para o controle da influenza aviária no mundo, de 2005 a 2007.

Membro da Poultry Science Association (PSA), da American Association of Avian Pathologists (AAAP) e da World Poultry Science Association (WPSA). Atualmente é diretor técnico do MercoLab – laboratório de diagnóstico veterinário – e atua como consultor nacional e internacional nas áreas de sanidade e produção de aves.

Masaio Mizuno Ishizuka é médica-veterinária, formada pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP); pós-graduada em matemática e estatística para investigadores do campo biológico pela Faculdade de Medicina (USP); doutora em medicina-veterinária, professora livre-docente em zoonoses – saúde pública veterinária, professora adjunta de medicina veterinária preventiva e saúde animal e professora titular (emérita) de epidemiologia das doenças infecciosas pela FMVZ-USP; pós-doutorada em metodologia de investigação epidemiológica pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Nihon (Japão) e especialização em raiva, brucelose, febre aftosa, criação e manejo de animais de laboratório e em legislação de defesa sanitária animal.

Possui quase uma centena de trabalhos científicos publicados nas áreas de toxoplasmose (suína, canina, bovina e equina); febre Q, raiva bovina; leptospirose, micoplasmose e circovirose suínas; laringotraqueite infecciosa, salmoneloses e micoplasmoses das aves. Assessora o programa de controle e erradicação da laringotraqueite infecciosa das aves na região de Bastos (SP). Consultora do projeto-piloto sobre compartimentação da OMSA no Brasil para frangos de corte e de projeto independente de compartimentação para empresa de genética da aves. Atualmente é diretora da Masaio Assessoria de Informações Científicas para Medicina Veterinária Preventiva, Saúde Animal e Bioestatística.

