

## OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS PARA VÍRUS AVIÁRIOS EM FRANGOS DE CORTE EM REGIÃO DE INTENSA PRODUÇÃO AVÍCOLA<sup>1</sup>

CARLOS H. ROMERO<sup>2</sup>, LIANA BRENTANO<sup>2</sup>, CHERYL ANN ROWE<sup>2</sup>, INGON WENTZ<sup>2</sup>, ROBIS S. FLORES<sup>3</sup> e JULIO CESAR RODRIGUES<sup>3</sup>

**ABSTRACT.-** Romero C.H., Brentano L., Rowe C.A., Wentz I., Flores R.S. & Rodrigues J.C. 1989. [Occurrence of antibodies for avian viruses in broilers in a region of high density poultry production. ] Ocorrência de anticorpos para vírus aviários em frangos de corte em região de intensa produção avícola. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 9(1/2):1-7. Embrapa-CNPISA, Cx. Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700, Brazil.

Blood samples were obtained at slaughter from sixty 43 to 56 day old broilers, from each of 60 healthy flocks located in a region of high density poultry production. The flocks tested corresponded to approximately 10% of the total number existing in the region and were located within a radius of 50 km. All broilers had been vaccinated against Marek's disease at one day of age. Sera were tested in the immunodiffusion test for antibodies to avian reovirus (ARV), infectious bursal disease virus (IBDV), fowl poxvirus (FPV), herpes virus of turkeys (HVT), avian adenovirus of groups 1 (AAV-1) and 2 (AAV-2). The same sera were tested in the micro serum neutralization test in plates for antibodies to infectious bronchitis virus (IBV) and infectious laryngotracheitis virus (ILTV), and for hemagglutination inhibition antibodies to Newcastle disease virus (NDV). Antibodies to ARV, detected in 2172 (63,6%) of 3418 sera, and to AAV-1, in 2701 (78,2%) of 3456 sera, were found in all 60 flocks, while antibodies to IBDV, in 3086 (89,4%) of 3452 sera, were found in only 57 of the same flocks. These results indicated that the three viruses are ubiquitous in broilers. Antibodies to FPV in 14 (0,5%) of 2935 sera, and to NDV in 6 (0,2%) of 3320 sera, were demonstrated in five of 59 and in one of 60 flocks, respectively, indicating that these two viruses occur only rarely. Antibodies to HVT, in 315 (9,0%) of 3384 sera, were detected in 39 of 60 flocks tested, suggesting poor serological response to vaccination and low field exposure to MDV. Antibodies to IBV, in 61 (2,1%) of 2925 sera, were found in 12 of 57 flocks tested. However, in only one flock was the percentage of reactors significant (41%); in the 11 flocks the percentage of broilers with antibody ranged from 1.7 to 16.1%. Finally, no antibodies were found in 3491 sera from 60 flocks tested for AAV-2, nor in 3035 sera from 59 flocks when tested for ILTV, indicating that these two viruses do not exist in the geographical area tested. The significance of these findings is discussed.

**INDEX TERMS:** Antibodies, broilers, reovirus, Gumboro, Fowl pox, Marek's disease, adenoviruses, infectious bronchitis, infectious laryngotracheitis, Newcastle disease.

**SINOPSE.-** Amostras de sangue foram obtidas ao abate de 60 frangos de corte, de 43 a 56 dias de idade, de cada uma de 60 granjas sem problemas sanitários aparentes localizadas em uma região de alta densidade de produção avícola. As granjas correspondiam a 10% do número total que existe na região e estavam localizadas em um raio de 50 km. Todos os frangos tinham sido vacinados contra a doença de Marek no primeiro dia de vida. Os soros foram avaliados no teste de imunodifusão para anticorpos para reovírus aviário (RVA), vírus da doença infecciosa da bursa (VDIB), vírus da bouba aviária (VBA), vírus herpes de perus (HVT), adenovírus aviário do grupo 1 (AVA-1) e do grupo 2 (AVA-2). Os mesmos soros foram examinados no microteste de

soroneutralização em placas para anticorpos para o vírus da bronquite infecciosa (VBI) e o vírus da laringotraqueíte infecciosa (VLTI), bem como anticorpos inibidores da hemaglutinação para o vírus da doença de Newcastle (VDN). Anticorpos para RVA, detectados em 2172 (63,6%) de 3418 soros, e para AVA-1, em 2701 (78,2%) de 3456 soros, foram demonstrados em todas as 60 granjas, enquanto que, anticorpos para o VDIB, em 3086 (89,4%) de 3452 soros, foram encontrados em somente 57 destas granjas. Estes resultados indicam que os três vírus são ubíquos em frangos de corte da região estudada. Anticorpos para o VBA em 14 (0,5%) de 2935 soros, para o VDN em seis (0,2%) de 3320 soros, foram encontrados em cinco de 59 e em uma de 60 granjas, respectivamente, indicando que esses dois vírus ocorrem apenas raramente. Anticorpos para HVT, em 315 (9,0%) de 3484 soros, foram detectados em 39 de 60 granjas testadas, sugerindo resposta sorológica pobre à vacinação e baixa exposição de campo ao vírus da doença de Marek. Anticorpos para o VBI, em 61 (2,1%) de 2925 soros, foram encontrados em

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 18 de fevereiro de 1988.

<sup>2</sup> Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Sufnos e Aves (CNPISA), Cx. Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700.

<sup>3</sup> Sadia Concórdia S.A. Ind. Com., Rua Senador Atilio Fontana 86, Concórdia, SC 89700.

12 de 57 granjas testadas. Porém, em apenas uma granja a percentagem de reagentes era significativa (41%); nas outras 11 granjas a percentagem de frangos com anticorpos variava de 1,7 a 16,1%. Finalmente, não foram detectados anticorpos em 3491 soros de 60 granjas testada para AVA-2, nem em 3035 soros de 59 granjas testadas para o VLTI, indicando que esses vírus não existem na área geográfica estudada. O significado de todos os achados é discutido.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** Anticorpos, frangos de corte, reovírus, Gumboro, boubá, Marek, adenovírus, bronquite infecciosa, laringotraqueíte infecciosa, Newcastle.

## INTRODUÇÃO

A exploração avícola moderna caracteriza-se por uma produção intensiva, em ciclos rápidos, que possibilita a criação de até 7 lotes de frangos de corte por ano, utilizando-se uma alta densidade de aves por m<sup>2</sup>. Esta característica facilita a disseminação de microorganismos patógenos aviários, especialmente vírus.

O monitoramento sorológico de uma população avícola pode determinar a presença ou ausência desses vírus. A conversão sorológica, conclusiva na identificação de uma virose recente, utiliza soros da fase aguda e da fase convalescente após a ocorrência de surto da doença clínica. Identifica também infecções "silenciosas", sem sintomas clínicos aparentes (Zander 1984).

As viroses são infecções que causam grandes prejuízos econômicos, e para combatê-las necessita-se de imunoprofilaxia específica aliada a medidas preventivas gerais, tais como limpeza, desinfecção e isolamento dos galpões e lotes de criação.

Os programas de vacinação intensos, praticados em matrizes produtoras de frangos comerciais, permitem a obtenção de progênie com altos títulos de anticorpos maternos, que protegem os pintos em crescimento contra algumas viroses. Entretanto, devido aos custos relativamente altos destes programas, a política de não se introduzir vacinas de vírus vivo em áreas de baixo risco e, ao ciclo rápido de crescimento do frango de corte, a tendência em algumas áreas geográficas é de se vacinar apenas contra a doença de Marek (DM).

Neste trabalho, realizado em uma de tais áreas geográficas, determinou-se a prevalência de alguns vírus aviários em granjas de frangos de corte, utilizando-se testes diagnósticos tradicionais e de fácil implementação em laboratórios convencionais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostragem

Sangue para a obtenção de soro foi coletado no momento do abate de frangos de corte de 43-56 dias de idade num frigorífico localizado no Município de Concórdia, Santa Catarina. As aves eram oriundas de 60 granjas, sem problemas sanitários aparentes, localizadas num raio de 50 km deste município, caracterizado por intensa criação de frangos de corte. As granjas estudadas correspondem a 10% das existentes nesta região e, em geral, são constituídas de galpões com capacidade para 6.000 ou 12.000 aves, da eclosão ao abate. De cada granja selecionada, obtiveram-

se amostras de sangue de 60 aves, o que corresponde a 0,5 - 1,0% das aves de um galpão. A única vacinação realizada nestas granjas foi contra a doença de Marek (DM), quando as aves tinham um dia de idade.

### Vírus

Os vírus utilizados na preparação de antígenos e estoques virais para os testes sorológicos foram: a cepa S1133 (Van der Heide & Kalbac 1975) de reovírus aviário (RVA); a cepa FC-126 (Witter et al. 1970) do vírus herpes de perus (HVT); a cepa vacinal tipo galinha (Arnizaut et al. 1983) do vírus da boubá aviária (VBA); uma cepa de campo do vírus da doença infecciosa da bursa (VDIB), também denominada doença de Gumboro, isolada da bursa de Fabrício de um frango corte refúgio, na região de Chapecó, Santa Catarina; vírus da enterite hemorrágica (VEH), um adenovírus do grupo 2, isolado do baço de perus moribundos com sintomas característicos de enterite hemorrágica e propagado através de passagem por via oral em perus; a cepa Tipton (Faddy & Winterfield 1973) de adenovírus aviário do grupo 1 (AVA-1); a cepa Beaudette do vírus da bronquite infecciosa (VBI) adaptada a cultivos primários de fígado de embrião de galinha (CEL'); a cepa vacinal do vírus da laringotraqueíte infecciosa (VLTI), adaptada a CEL' e obtida dos Laboratórios de Pesquisa Veterinária, Departamento de Agricultura, Stormont, Irlanda do Norte; e a cepa vacinal LaSota do vírus da doença de Newcastle (VDN).

### Preparação de antígenos e estoques virais

Células para cultivos primários de fibroblastos (FEG') e de fígado (CEL') de embrião de galinha foram obtidas por métodos convencionais.

O meio de cultura para crescimento (MC) foi uma mistura em partes iguais dos meios Ham F10 e 199 acrescida de soro bovino (3% para FEG' e 5% para CEL'), penicilina (500 U/ml), estreptomomicina (500 µg/ml), neomicina (20 µg/ml) e micostatina (50 U/ml). Utilizaram-se garrafas Corning de plástico, de 150 cm<sup>2</sup> ou placas de Petri Falcon, de plástico, de 150 x 25 mm, semeadas com 60-80 x 10<sup>6</sup> células suspensas em 25 ml de MC.

A confluência das monocamadas celulares acontecia, geralmente, após 24-48 horas. Para a propagação do RVA e do VBA, cultivos de FEG' foram drenados e inoculados diretamente na monocamada, para a propagação do AVA-1, VBI e do VLTI inocularam-se cultivos de CEL', diretamente na monocamada. Em todos os casos, a adsorção viral foi realizada diretamente na monocamada durante duas horas; o HVT associado a células, foi inoculado diretamente no MC e sua adsorção, ao cultivo de FEG', foi realizado durante um mínimo de 24 horas.

Após a adsorção, os inóculos foram retirados por drenagem e os cultivos alimentados com 25 ml de meio de manutenção (MM) similar ao MC, mas contendo 1% (RVA, HVT, AVA-1 e VBA) ou 2% (VBI e VLTI) de soro bovino. No caso dos cultivos infectados com o VBI foi acrescida sacarose ao MM numa concentração final de 1,5% (Lukert 1980).

Quando o efeito citopático (CPE), induzido por esses vírus, atingia mais de 90% da monocamada, esta era suspensa por agitação no próprio MM, e a mistura transferida para frascos de centrífuga Nalgene de 250 ml de capacidade. O material foi congelado (-80°C) e descongelado (37°C) três vezes com o objetivo de liberar antígenos e vírus intracelulares, centrifugado a 1.750 g durante 15 minutos a 5°C e o sobrenadante foi coletado sem perturbar o sedimento celular.

No caso do RVA, HVT, AVA-1 e VBA, os sobrenadantes foram concentrados entre 60 a 80 vezes a 5°C em tubos de diá-

lise submersos em polietilenoglicol PM 8.000. O concentrado obtido foi distribuído em volumes de 1-2 ml, estocado a -20°C e utilizado como antígeno viral no teste de imunodifusão em gel de ágar (AGP). No caso do VBI e VLTI, os sobrenadantes foram divididos em alíquotas de 2 ml e congelados a -80°C para sua titulação em CEL' e utilização no microteste de soroneutralização (SN).

O VDIB foi propagado, por instilação ocular, em pintos de 3-4 semanas de idade, livres de microorganismos patogênicos aviários (SPF) mantidas em isoladores com ar filtrado e pressão positiva. Quatro dias após a infecção, as aves foram sacrificadas, as bursas extirpadas e trituradas em volume similar de tampão fosfatado salino (PBS) de pH 7,2-7,4. Após três ciclos de congelamento e descongelamento, a preparação foi clarificada a 1.560 g durante 15 minutos, o sobrenadante distribuído em volumes de 1-2 ml, congelado a -20°C e utilizado como antígeno no teste de AGP.

O VEH ou AVA-2 foi propagado em perus comerciais de 6-8 semanas de idade através da administração oral de 1 ml de uma suspensão esplênica a 10% em PBS. Quatro dias após os perus foram sacrificados, o baço retirado e triturado em volume igual de PBS e congelado e descongelado 3 vezes. A suspensão foi centrifugada a 1.560 g durante 15 minutos, o sobrenadante dispensado em alíquotas de 1-2 ml, congelado a -20°C e utilizado como antígeno no teste de AGP.

A cepa LaSota do VDN foi propagada em ovos de galinha embrionados com 10 dias de incubação. O líquido corioalantóide, coletado 48-72 horas após a infecção, foi clarificado por centrifugação, inativado com beta propiolactona (concentração final de 0,1%) e congelado em volumes de 1-2 ml a -80°C para ser titulado e utilizado no teste de inibição da hemoaglutinação (HI).

#### *Soros de referência*

A obtenção de soros de referência para o VDM (Vianna & Romero 1983), VBA (Arnizaut et al. 1983) e VEH (Romero et al. 1983) foi anteriormente descrita. Soros para o VDIB foram obtidos de duas das aves instiladas pela via ocular com este vírus, duas semanas após a infecção. Soros para o VBI e VLTI foram produzidos em aves SPF de 10 semanas idade, mantidas em isoladores com ar filtrado e pressão negativa. As aves foram inoculadas pela via ocular com a cepa Beaudette (VBI), ou pela via intratraqueal com a cepa vacinal do VLTI e sacrificadas para a obtenção de soro três semanas depois. Utilizaram-se também soros do campo de aves vacinadas com a cepa H-120 do VBI. Soros para o VDN foram preparados em aves SPF de 10 semanas de idade através da vacinação ocular e nasal com a cepa LaSota, durante três semanas consecutivas, sacrificando-se as aves para a obtenção dos soros uma semana após a terceira vacinação. Antisoros para o RVA e AVA-1 foram produzidos pela inoculação intra-abdominal de pintos SPF de uma semana de idade com as cepas S1133 e Tipton, respectivamente. As aves foram monitoradas no teste de AGP e sacrificadas para se obter soros, quando estes produziam duas linhas de precipitação nítidas, testados frente aos respectivos antígenos.

#### *Teste de imunodifusão (AGP)*

O teste de AGP previamente descrito para o VDM (Vianna & Romero 1983) foi adaptado para a testagem de anticorpos para o RVA, VDIB, VBA, AVA-1 e VEH. A única modificação consistiu na utilização de ágar na concentração de 0,8%. A leitura do teste foi realizada após 48-72 horas.

#### *Teste de soroneutralização (SN)*

A utilização do microteste de soroneutralização (SN) em placas de 96 orifícios de fundo plano, determinou a presença de anticorpos para o VBI e o VLTI. Os soros foram inativados por aquecimento em banho-maria a 56°C durante 30 minutos e testados em duplicata numa diluição de 1:10. Adicionou-se volume similar da suspensão viral correspondente, contendo 100 unidades infectantes médias (100 TCID<sub>50</sub>) para CEL' e as misturas soro-vírus foram incubadas durante 60 minutos a 38°C (VLTI) ou à temperatura ambiente (VBI). À continuação adicionou-se a cada poço da placa 150 µl de MC contendo 150.000 células de CEL', sendo que para o VBI o MC conteve 1,5% de sacarose. As placas foram incubadas na estufa a 38°C com uma atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e a leitura final realizada no quinto dia de incubação. Um soro foi considerado positivo para anticorpos quando neutralizou completamente o CPE, induzido por estes vírus. Por outro lado, um soro foi considerado isento de anticorpos quando permitiu o aparecimento do CPE viral em qualquer grau. Em cada placa, incorporou-se sempre um soro de referência positivo e outro negativo. Durante a realização de cada teste de SN, titulóu-se em ocluplicata as 100 TCID<sub>50</sub> para se determinar a quantidade real de vírus em teste.

#### *Teste de inibição da hemoaglutinação*

Utilizou-se o microteste de inibição da hemoaglutinação (HI) em placas de 96 orifícios de fundo em U com diluição única de soro de 1:10 em duplicata, 10 unidades hemoaglutinantes da cepa LaSota do VDN e suspensão de eritrócitos de galinha a 0,5% (Beard 1980).

## RESULTADOS

Foram realizados 29.516 testes sorológicos para determinar a presença de anticorpos para nove vírus aviários em soros de frangos de corte, obtidos ao abate e, oriundos de 60 granjas localizadas em uma área de alta densidade de produção avícola.

O demonstrativo dos resultados da ocorrência desses anticorpos por granja é apresentado nos Quadros 1 e 2.

O teste de AGP demonstrou ampla disseminação de RVA, AVA-1 e VDIB; insignificante resposta sorológica à vacinação contra a DM; escassa contaminação ambiental com o VDM e VBA e; ausência de anticorpos para o AVA-2, exemplificado pelo vírus da enterite hemorrágica.

A avaliação dos mesmos soros pelo teste de SN demonstrou a presença de anticorpos para o VBI em poucas aves de algumas granjas e a inexistência de anticorpos para o VLTI em todas as granjas testadas.

Anticorpos inibidores da hemoaglutinação do VDN, foram encontrados em 6 soros de uma granja.

Os resultados globais da avaliação são apresentados no Quadro 3. Verificou-se que 100% das granjas testadas tinham aves com anticorpos para RVA e AVA-1, mas estavam livres de anticorpos para o VLTI e AVA-2.

## DISCUSSÃO

Os soros examinados originaram-se de frangos de corte, de 60 granjas localizadas numa região de intensa produ-

Quadro 1. Anticorpos precipitantes (AGP), neutralizantes (SN) e inibidores da hemoaglutinação (HI) para vírus aviários em soros de frangos de corte em região de alta densidade avícola

Granja	AGP <sup>a</sup>						SN <sup>b</sup>		HI <sup>c</sup>
	Reovfrus	Gumboro	Bouba	Marek	Adeno I	Adeno II	Bronquite	Laringotraqueíte	Newcastle
01	24/49	0/49	0/45	26/49	48/49	0/49	0/40	0/41	0/46
02	40/50	50/50	0/40	3/50	50/50	0/50	0/46	0/46	0/47
03	26/49	49/49	1/49	3/49	48/49	0/49	0/49	0/49	0/49
04	35/50	50/50	0/40	17/50	12/50	0/50	0/47	0/45	0/46
05	47/49	49/49	0/49	12/49	49/49	0/49	0/49	0/49	0/49
06	44/60	60/60	1/54	0/60	59/60	0/60	0/53	0/52	0/55
07	53/60	60/60	0/59	2/60	56/59	0/60	0/52	NT	0/57
08	53/60	60/60	0/60	2/60	26/60	0/60	0/60	0/60	0/60
09	44/60	60/60	0/54	1/60	58/60	0/60	0/59	0/59	0/59
10	16/60	60/60	0/60	0/60	60/60	0/60	0/59	0/58	0/60
11	46/60	60/60	0/58	0/59	57/59	0/60	0/58	0/58	0/58
12	45/60	60/60	5/60	0/60	58/60	0/60	0/60	0/60	0/60
13	53/59	59/59	1/59	0/59	59/59	0/59	0/57	0/56	0/59
14	27/58	58/58	0/28	0/58	53/58	0/58	0/48	0/48	0/52
15	42/60	60/60	0/56	0/60	50/60	0/60	0/56	0/54	0/59
16	49/59	59/59	0/58	15/59	56/59	0/59	0/54	0/43	0/59
17	58/60	60/60	0/52	22/60	59/60	0/60	NT	0/46	0/59
18	51/60	59/59	0/52	0/59	58/59	0/59	NT	0/54	0/57
19	5/57	57/57	0/53	0/56	7/57	0/57	0/51	0/51	0/56
20	42/59	59/59	0/33	0/57	44/59	0/59	0/53	0/52	0/56
21	54/58	0/58	0/57	0/58	6/58	0/58	0/54	0/58	0/58
22	43/59	58/59	0/39	0/57	27/57	0/59	0/24	0/49	0/54
23	3/58	5/58	0/47	0/58	27/58	0/58	0/54	0/57	0/58
24	25/54	60/60	0/43	1/59	50/58	0/60	0/41	0/54	0/56
25	51/60	59/60	0/52	19/59	42/60	0/60	0/51	0/56	0/58
26	25/49	59/59	0/46	11/59	34/59	0/59	NT	0/58	0/59
27	18/59	60/60	0/58	4/60	42/60	0/60	0/57	0/52	0/60
28	59/60	60/60	0/46	3/57	41/60	0/60	2/53	0/44	0/47
29	57/60	49/60	0/58	8/60	21/60	0/60	0/59	0/53	0/60
30	31/57	60/60	NT <sup>d</sup>	19/60	47/56	0/60	2/56	0/58	0/59

<sup>a</sup> Imunodifusão;

<sup>b</sup> Soroneutralização;

<sup>c</sup> Inibição de hemoaglutinação;

<sup>d</sup> Não testado.

ção avícola, que tinham recebido apenas a vacina HVT FC-126 contra a DM, imediatamente após a eclosão no incubatório. Conseqüentemente para a interpretação dos resultados considerou-se que, com exceção da DM, a demonstração de anticorpos para um determinado vírus, era indicativo de infecção natural com este vírus, independente do número ou percentagem de soros positivos encontrados em uma granja.

Os antígenos utilizados no teste de AGP, preparados com o RVA, VDIB, VBA, HVT, AVA-1 e AVA-2, reagiram com os soros de referência formando 2 linhas de precipitação; poucos foram os soros de campo que reagiram de forma similar, a maioria deu origem a uma linha. A maioria dos sorotipos de RVA possui um antígeno precipitante em comum, facilmente detectável no teste de AGP, podendo este ser utilizado para a detecção de anticorpos, independente do sorotipo envolvido. Estes anticorpos tendem a persistir em aves com problemas de artrite ou tenosinovite, podendo desaparecer após 4 semanas (Olson 1980). Os resultados confirmam aqueles que em outros países indicaram ampla disseminação dos reovírus aviários (Olson 1984). Os reovírus, de significativa importância econômica, são associados com artrite e tenosinovite, conversão alimentar deficiente, crescimento pobre e refugagem, alteração da relação bursa de Fabri-

cius e baço com o peso corporal e mortalidade (Montgomery et al. 1986), podendo-se disseminar horizontalmente por contato direto ou indireto e, verticalmente através do ovo de matrizes infectadas e sua progênie (Dhillon et al. 1986).

Os resultados da avaliação sorológica para o VDIB indicaram também ampla disseminação deste vírus, encontrando-se anticorpos em 57 das 60 granjas examinadas. A percentagem de reagentes nas granjas infectadas foi significativa, sendo que em 48 (84,2%) delas, 100% das aves testadas possuíam anticorpos. Apesar de se haver encontrado estas altas taxas de infecção de campo, os dados de produtividade dos lotes infectados acusaram índices normais ao abate. Estes resultados podem indicar que as cepas do VDIB prevalentes na região estudada possuem escasso poder patogênico, ou estão presentes em quantidades significativamente mais abundantes que as cepas mais virulentas, atuando como vacinas naturais. No mundo inteiro, a doença infecciosa da bursa continua sendo um sério problema para a criação de frangos de corte em regiões de alta densidade avícola, apesar da introdução de vacinas com cepas vivas de patogenicidade intermediária (Giambrone & Clay 1986). As perdas econômicas são decorrentes de uma combinação de fatores que possibilitam maior agressividade viral tais como: ca-

Quadro 2. Anticorpos precipitantes (AGP), neutralizantes (SN) e inibidores da hemoaglutinação (HI) para vírus aviários em soros de frangos de corte em região de alta densidade avícola

Granja	AGP <sup>a</sup>						SN <sup>b</sup>		HI <sup>c</sup>
	Reovírus	Gumboro	Bouba	Marek	Adeno I	Adeno II	Bronquite	Laringotraqueíte	Newcastle
31	55/55	60/60	0/17	0/60	20/57	0/60	0/46	0/18	0/52
32	40/60	6/60	0/59	10/60	11/60	0/60	0/40	0/40	0/59
33	17/60	60/60	0/59	0/60	60/60	0/60	0/59	0/57	0/40
34	22/60	60/60	0/60	13/60	53/60	0/60	0/57	0/57	0/57
35	46/55	54/54	0/51	0/55	39/55	0/54	0/44	0/39	6/44
36	32/59	59/59	0/35	0/59	48/48	0/59	0/50	0/51	0/48
37	36/60	60/60	0/52	0/60	59/59	0/60	0/44	0/43	0/45
38	14/58	58/58	0/56	1/58	42/58	0/58	0/48	0/52	0/52
39	56/60	60/60	6/60	16/60	56/60	0/60	9/54	0/56	0/55
40	45/60	60/60	0/57	1/60	60/60	0/63	5/59	0/59	0/59
41	45/59	60/60	0/59	2/60	59/59	0/60	0/52	0/59	0/59
42	28/59	59/59	0/49	4/59	59/59	0/59	23/56	0/58	0/59
43	45/59	33/54	0/39	5/60	27/60	0/60	0/38	0/48	0/60
44	27/57	0/60	0/34	12/59	58/58	0/59	0/57	0/58	0/55
45	40/60	51/52	0/55	6/60	49/56	0/60	1/60	0/51	0/53
46	47/57	58/58	0/57	34/60	36/59	0/58	1/56	0/55	0/58
47	22/29	60/60	0/52	2/60	59/60	0/60	6/54	0/54	0/60
48	22/55	55/55	0/51	2/58	58/58	0/58	0/47	0/49	0/55
49	11/59	57/57	0/55	3/60	35/57	0/59	0/55	0/56	0/59
50	12/60	60/60	0/58	3/60	55/58	0/59	2/59	0/57	0/60
51	15/56	60/60	0/36	2/60	60/60	0/60	0/43	0/47	0/56
52	23/54	45/45	0/24	15/56	50/55	0/55	0/30	0/37	0/48
53	53/59	57/57	0/49	1/59	30/59	0/59	3/51	0/55	0/58
54	49/59	56/56	0/38	4/58	58/58	0/58	0/49	0/48	0/59
55	34/60	60/60	0/57	0/60	53/60	0/60	0/59	0/60	0/60
56	33/57	57/57	0/52	0/60	60/60	0/60	4/49	0/54	0/57
57	27/43	41/42	0/39	3/43	23/43	0/43	0/39	0/38	0/43
58	24/56	4/60	0/49	4/60	1/60	0/60	3/57	0/54	0/60
59	45/59	58/58	0/59	4/60	59/59	0/59	0/57	0/51	0/59
60	40/60	59/59	0/52	0/59	59/59	0/59	0/56	0/54	0/59

<sup>a</sup> Imunodifusão;  
<sup>b</sup> Soroneutralização;  
<sup>c</sup> Inibição de hemoaglutinação.

Quadro 3. Ocorrência de anticorpos para vírus aviários em soros de frangos de corte oriundos de uma região de intensa produção avícola

Vírus	Cepa	Teste sorológico <sup>a</sup>	Granjas		Soros	
			Infectadas	Testadas (%)	Anticorpos	Testados (%)
Reo	S1133	AGP	60/60	(100,0)	2172/3418	(63,6)
Gumboro	Sorotipo 1	AGP	57/60	(95,0)	3086/3452	(89,4)
Bouba	Galina	AGP	5/59	(8,5)	14/2935	(0,5)
Marek	FC-126	AGP	39/60	(65,0)	315/3484	(9,0)
Adeno I	Tipton	AGP	60/60	(100,0)	2701/3456	(78,2)
Adeno II	Enterite hemorrágica	AGP	0/60	(0,0)	0/3491	(0,0)
Bronquite infecciosa	Beaudette	SN	12/57	(21,1)	61/2925	(2,1)
Laringotraqueíte	Vacinal	SN	0/59	(0,0)	0/3035	(0,0)
Newcastle	LaSota	HI	1/60	(1,7)	6/3320	(0,2)

<sup>a</sup> AGP = Imunodifusão; SN = Soroneutralização; HI = Inibição de hemoaglutinação.

mas de criação altamente contaminadas com vírus virulento, dando origem a precoce infecção dos pintinhos; a presença de anticorpos de origem materna durante os primeiros dias de vida, que dificulta o estabelecimento da infecção em aves vacinadas com cepas de pouca agressividade (*neutralização in vivo*); falta de uma estratégia de vacinação, baseada no monitoramento sorológico quantitativo da persistência de anticorpos de origem materna e; imunidade desuniforme da progênie devido a esquemas de vacinação deficiente nas matrizes. Uma das melhores estratégias para o controle da doença consiste na lavagem e completa desinfecção dos aviários antes de se colocar

um novo lote (all in all out). Observações neste sentido foram obtidas em três granjas, nas quais, após esse tratamento, conseguiu-se criar aves durante um mínimo de 7 semanas, sem se obter, sequer, uma ave com anticorpos para o VDIB.

Os resultados dos testes de AGP para anticorpos do VBA indicaram escassa infecção de campo com este vírus, a julgar pelo número reduzido de aves soro-positivas nas cinco (8,5%) das 59 granjas testadas. Os anticorpos precipitantes para o VBA desenvolvem-se e desaparecem rapidamente após a infecção natural, recomendando-se que os soros para a avaliação de anticorpos sejam obtidos

entre 15-20 dias após a infecção (Tripathi & Cunningham 1984). Em frangos vacinados pela via subcutânea no incubatório e, em frangos de 2 semanas vacinados por escarificação ou por punção da asa, pode-se detectar estes anticorpos, respectivamente, a partir da segunda e quarta semanas de idade, persistindo por um mínimo de 4 semanas (Arnizaut et al. 1983).

Os resultados da avaliação de anticorpos para o VDM foram surpreendentes. Apesar de 100% das aves terem sido vacinadas no primeiro dia de vida, com a vacina HVT, apenas 9% delas possuíam anticorpos ao abate, demonstráveis pelo teste de AGP. Estes anticorpos foram detectados somente em aves de 39 das 60 granjas testadas. Como as aves estudadas tinham entre 43-56 dias de idade e os anticorpos para o VDM podem ser detectados na maioria das aves infectadas 6 semanas após a infecção (Vianna & Romero 1983), o problema não poderia estar relacionado com a sensibilidade do teste. Sugere-se que as causas mais prováveis nos resultados encontrados possam ser: a utilização de doses subantigênicas da vacina HVT, devido ao costume local de se dividir a dose recomendada pelos fabricantes em meia e um quarto de dose; a rápida neutralização de doses subótimas de vacina HVT pelos anticorpos de origem materna homólogos (sorotipo 3) e heterólogos (sorotipos 1 e 2), e a utilização de cepas de HVT de título adequado *in vitro*, mas com capacidade insuficiente para se estabelecer *in vivo*, devido a sua excessiva atenuação como consequência do número elevado de passagens em cultivos celulares.

Por outro lado, a baixa percentagem de granjas infectadas e de aves com anticorpos indicam que a exposição precoce de frangos de corte ao VDM na região é pouco comum.

Os resultados confirmaram a disseminação ampla dos AVA do grupo 1. Anticorpos foram demonstrados em aves de 100% das granjas e em 78,2% de todas as aves testadas. A infecção é tão comum e eficiente que, em 47% das granjas infectadas, entre 95 e 100% das aves possuíam anticorpos. Os resultados obtidos não fornecem informação sobre a ocorrência dos 12 sorotipos conhecidos para os AVA-1 (McFerran 1980) pelo fato do teste de AGP detectar anticorpos para o antígeno comum a este grupo. Os resultados indicam também que o teste utilizado é altamente sensível na detecção de anticorpos, atribuindo-se esta propriedade a qualidade do antígeno preparado em CEL'.

O significado das altas taxas de anticorpos encontrados é desconhecido. Estudos realizados na Grã-Bretanha (Cook 1970) e nos Estados Unidos (Grimes et al. 1977) demonstraram alta frequência de anticorpos neutralizantes para AVA-1 em lotes de aves sadias. Os AVA-1, de uma maneira geral, são considerados oportunistas e sua patogenicidade depende do estado fisiológico do hospedeiro. Os AVA parecem adquirir importância sanitária na presença de agentes imunodepressores biológicos (Rosenberger et al. 1975, Fadly et al. 1976) e químicos (Fadly et al. 1980).

O VEH, juntamente com o vírus do baço marmóreo (VBM) dos faisões e o vírus da esplenomegalia (VE) das galinhas dão origem a enfermidades agudas e são tentativamente classificadas como adenovírus aviários do grupo 2, devido a forte relação antigênica em comum e a falta de reação cruzada com adenovírus aviários do grupo 1 (Domermuth et al. 1979). Os resultados, utilizando antígeno preparado a partir de baço de perus infectados com o VEH, demonstraram que nenhum dos três adenovírus do grupo 2 existem na região estudada. Todos os 3.491 soros obtidos de 60 granjas foram negativos para anticorpos no teste de AGP. Estes resultados são diferentes dos descritos por Domermuth et al. (1979) nos Estados Unidos, que relataram a ocorrência de anticorpos para o VEH e o VBM em lotes de frangos de corte com esplenomegalia e taxas de condenação de 1-4%. Estes autores encontraram anticorpos em 13 lotes com uma média de idade de  $32,9 \pm 12,4$  semanas de 28 lotes de frangos testados. Em nenhum caso encontrou-se anticorpos em mais de 50% das aves testadas. Por outro lado, a média de idade dos 15 lotes sem anticorpos foi de  $12,8 \pm 7,3$  semanas e 50% correspondia a aves entre 6 e 7,5 semanas de idade, similar à idade dos frangos avaliados neste estudo.

O teste de SN utilizado na detecção de anticorpos para o VBI é específico para o sorotipo Massachusetts (Lukert 1980). Evidência de infecção com o VBI foi encontrada em aves de 12 a 57 granjas testadas.

O VBI é contagioso e quando aparece em lotes suscetíveis, se dissemina rapidamente, causando soroconversão da maioria das aves expostas. Em apenas um lote infectado foi possível demonstrar uma taxa significativa de aves infectadas (41%), enquanto que nos outros 11 lotes infectados as percentagens de aves com anticorpos variavam de 1,7 a 16,1%. Como os soros foram testados numa diluição única de 1:10, é possível que em alguns casos a neutralização tenha sido ocasionada pela presença de inibidores termo-resistentes não específicos para o VBI presentes em alguns soros de aves (Lukert 1973). Porém, poucas semanas após a realização deste trabalho, aconteceram na região, surtos de problemas respiratórios em frangos de corte, dos quais foram isoladas amostras do VBI (Ingon Wentz, resultados não publicados).

O teste de SN para o VLTI detecta anticorpos para o único sorotipo conhecido. Como não se demonstrou a presença de anticorpos neutralizantes em 3.035 soros de 59 granjas testadas, conclui-se que esta infecção não existe na região estudada.

Com referência ao VDN, foram encontrados anticorpos inibidores da hemoaglutinação em 6 aves de uma granja, confirmando-se esta reatividade através de retestagem. É difícil explicar a ocorrência destas poucas aves positivas. Especula-se que algumas aves desta granja poderiam ter sido infectadas com cepa não patogênica do VDN introduzida por aves silvestres.

Concluímos que, o VLTI e o AVA-2 não existem na área geográfica testada; o RVA, AVA-1 e o VDIB são de

alta prevalência e disseminação, e infecções para o VBA e o VDN são de rara ocorrência. Por outro lado, a resposta sorológica após vacinação com HVT não é adequada e problemas associados a DM não acontecem na área devido a escassa agressão de campo com o VDM.

*Agradecimentos.*- Agradecemos a assistência laboratorial de Ivane Müller e Áurea Dartora.

### REFERÊNCIAS

- Armizaut A.B., Souza P.C.A., Romero C.H., Cruz G.B. & Rowe C.A. 1983. Agar gel precipitation and fluorescent antibody tests to monitor fowlpox immunity in chickens and turkeys. Proc. 32nd Western Poultry Dis. Conf., Davis, California, p. 4-6.
- Beard C.W. 1980. Serologic procedures, p. 129-135. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G. & Williams J.E. (ed.) Isolation and Identification of Avian Pathogens, 2nd ed. Creative Printing Company, Endwell, New York.
- Cook J.K.A. 1970. Incidence of chick embryo lethal orphan virus antibody in the fowl (*Gallus domesticus*) in Britain. Res. Vet. Sci. 11:343-348.
- Dhiloon A.S., Kibenge F.S.B. & Page R.K. 1986. Viral arthritis in fryers related to reovirus infection in breeders. Avian Dis. 30:613-616.
- Domermuth C.H., Harris J.R., Gross W.B. & DuBose R.T. 1979. A naturally occurring infection of chickens with a hemorrhagic enteritis/marble spleen disease type of virus. Avian Dis. 23:479-484.
- Fadly A.M., Riegle B.J., Nazerian K. & Stephens E.A. 1980. Some observations on an adenovirus isolated from specific pathogen free chickens. Poultry Sci. 59:21-27.
- Fadly A.M., Winterfield R.W. 1973. Isolation and some characteristics of an agent associated with inclusion body hepatitis, hemorrhages and aplastic anemia in chickens. Avian Dis. 17:182-193.
- Fadly A.M., Winterfield R.W. & Olander H.J. 1976. Role of the bursa of Fabricius in the pathogenicity of inclusion body hepatitis and infectious bursal disease viruses. Avian Dis. 20:467-477.
- Giambone J.J. & Clay R.P. 1986. Vaccination of day-old broiler chicks against Newcastle disease and infectious bursal disease using commercial live and/or inactivated vaccines. Avian Dis. 30:557-561.
- Grimes T.M., Culver D.H. & King D.J. 1977. Virus-neutralizing antibody titers against 8 avian adenovirus serotypes in breeding hens in Georgia by a microneutralization procedure. Avian Dis. 21:220-229.
- Lukert P.D. 1973. Avian infectious bronchitis virus: characteristics of an inhibitor found in serum. Arch. Ges. Virusforsch. 49:93-104.
- Lukert P.D. 1980. Infectious bronchitis, p.70-72. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G. & Williams J.E. (ed.) Isolation and Identification of Avian Pathogens, 2nd ed. Creative Printing Company, Endwell, New York.
- McFerran J.B. 1980. Avian adenoviruses, p. 102-105. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G. & Williams J.E. (ed.) Isolation and Identification of Avian Pathogens, 2nd ed. Creative Printing Company, Endwell, New York.
- Montgomery R.D., Villegas P. & Kleven S.H. 1986. Role of route of exposure, age, sex, and type of chicken on the pathogenicity of avian reovirus strain 81-176. Avian Dis. 30:460-467.
- Olson N.O. 1980. Viral arthritis, p. 85-87. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G. & Williams J.E. (ed.) Isolation and Identification of Avian Pathogens, 2nd ed. Creative Printing Company, Endwell, New York.
- Olson N.O. 1984. Reovirus Infections, p. 560-566. In: Hofstad M.S., Barnes H.J., Calnek B.W., Reid W.M. & Yoder H.W. Jr. (ed.) 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Romero C.H., Castro I.B. & Back A. 1983. Antibody persistence in natural and experimental hemorrhagic enteritis virus infection in turkeys. Proc. 32nd Western Poultry Dis. Conf., Davis, California, p. 37-38.
- Rosenberger J.K., Klopp S., Eckroade R.J. & Krauss W.C. 1975. The role of infectious bursal agent in the hemorrhagic-aplastic anemia syndrome and gangrenous dermatitis. Avian Dis. 19:717-729.
- Tripathi D.N. & Cunningham C.H. 1984. Avian Pox, p. 524-534. In: Hofstad M.S., Barnes H.J., Calnek B.W., Reid W.M. & Yoder H.W. Jr. (ed.) 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Van der Heide L. & Kalbac M. 1975. Infectious tenosynovitis (viral arthritis): Characterization of a Connecticut viral isolant as a reovirus and evidence of viral egg transmission by reovirus-infected broiler breeders. Avian Dis. 19:683-688.
- Vianna L.F.C. & Romero C.H. 1983. Patogenicidade de uma cepa do vírus herpes da doença de Marek. Pesq. Vet. Bras. 3(4):131-139.
- Witter R.L., Nazerian K., Purchase H.G. & Burgoyne G.H. 1970. Isolation from turkeys of a cell-associated herpes virus antigenically related to Marek's disease virus. Am. J. Vet. Res. 31:525-538.
- Zander D.V. 1984. Principles of disease prevention: diagnosis and control, p. 1-37. In: Hofstad M.S., Barnes H.J., Calnek B.W., Reid W.M. & Yoder H.W. (ed.) 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.