

Bronquite infecciosa das galinhas



Iara Maria Trevisol

Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC
iara.trevisol@embrapa.br

A bronquite infecciosa (BI) é uma doença viral e contagiosa das aves, disseminada no mundo todo.

O vírus que causa a bronquite infecciosa (VBI) faz parte da família *Coronaviridae*, gênero *Coronavirus*. Três grupos compõem o gênero *Coronavirus*, o VBI está inserido no grupo 3 (Cavanagh e Naqi, 2003).

O VBI é um vírus envelopado, que contém um genoma de RNA não segmentado de 27,6 Kb, que codifica 3 proteínas estruturais: M, S e N. A glicoproteína S (“spikeprotein”) contém 1160 aminoácidos e é clivada em duas subunidades, S1 e S2, das quais S2 é mais conservada em sua sequência de aminoácidos. A glicoproteína S1 é responsável pela infectividade viral e possui determinantes antigênicos que induzem a formação de anticorpos neutralizantes. A variação na sua composição aminoacídica é a principal estratégia do VBI para “escapar” dos mecanismos de defesa do hospedeiro (Cavanagh *et al.*, 1992; Cavanagh *et al.*, 1997; Cook *et al.*, 1999). A S1 é a principal indutora da resposta imune protetora contra a infecção pelo VBI, sendo por isto, de fundamental importância na imunoprofilaxia da doença (Cook *et al.*, 1996).

O VBI tem predileção pelas células epiteliais, sendo a mucosa do sistema respiratório seu alvo primário. Em aves nas primeiras semanas de vida, em decorrência da multiplicação no epitélio traqueal, é possível observar coriza, ouvir espirros e outros ruídos traqueais anormais. As lesões no sistema respiratório diminuem o consumo de ração e conseqüentemente o desempenho do lote. As complicações com infecções bacterianas secundárias aumentam as perdas econômicas, com maior consumo de insumos biológicos e condenação de carcaças, principalmente por aerossaculite, causada pela

associação do vírus com bactérias (Cavanagh e Naqi, 2003). Em frangos de corte e aves adultas, o VBI multiplica-se com maior afinidade ao epitélio ciliar renal, causando nefrite e nefrose, conseqüentemente, ocorre queda do ganho de peso, aumenta a conversão alimentar e pode ocorrer aumento da mortalidade diária (10 a 30%). O vírus replica também nas células epiteliais do oviduto e em aves em produção causa queda na postura (10 a 20%), e ovos defeituosos (casca molde, sem casca, casca rugosa). A qualidade interna do ovo também é afetada (albumina aquosa), mas nessa fase da vida da ave, praticamente não há mortalidade (Cavanagh e Naqi, 2003).

Os sinais clínicos da BI são claros, mas não são específicos, portanto, são necessárias ferramentas para identificar o agente e relacioná-lo aos problemas clínicos observados no campo (Wit, 2000).

De maneira geral, a infecção pelo VBI pode ser diagnosticada pela detecção do vírus ou parte dele e pela resposta específica de anticorpos. O ensaio mais utilizado é o isolamento viral. Embora laborioso, o método clássico para isolamento é a passagem do vírus em ovos embrionados ou em cultura de células (De Wit, 2000).

A detecção de anticorpos específicos também pode ser utilizada, e apresenta maior correlação com os problemas clínicos se for realizada a colheita pareada: duas colheitas de soro: uma no momento em que surgem os sinais clínicos e a outra, duas a quatro semanas mais tarde. O aumento de títulos de anticorpos de pelo menos quatro vezes na segunda colheita comparado a primeira é considerado diagnóstico positivo. Testes como vírus neutralização (VN) e ELISA podem ser utilizados (De Wit, 2000, Cavanagh e Naqi, 2003).

A capacidade do VBI de incorporar freqüentes mutações e recombinações em seu genoma, resultam em ocorrência periódica de novas amostras de vírus. Essa variabilidade confere ao vírus uma vantagem evolutiva considerável, uma vez que ele mantém a estabilidade genética e gera produtos com grande diversidade antigênica superficial, permitindo evadir-se das defesas do hospedeiro (Murphy *et al.*, 1999).

Para classificar os diferentes tipos de vírus, existem dois sistemas: testes funcionais que consideram a função biológica do vírus e testes não funcionais que focam o genoma viral. A tipificação por testes funcionais resulta em imunotipos ou protectotipos e,

tipos antigênicos (sorotipos). Testes para o genoma resultam em genótipos. A escolha do melhor sistema de classificação vai depender do objetivo da tipificação: se estudos epidemiológicos, avaliação de técnicas, ou escolha de programas de vacinas, por exemplo (De Wit, 2000). A classificação em imunotipos ou protectotipos promove informações sobre a eficácia de vacinas e é obtida através de estudos de imunização cruzada realizadas *in vivo* e *in vitro*. Amostras virais que induzem proteção uma para outra pertencem ao mesmo imuno ou protectotipo (De Wit, 2000). O sistema clássico para tipificação funcional é a sorotipagem, que é baseada nas reações entre amostras do VBI e o aumento de anticorpos sorotipo-específico para esta amostra. Duas amostras de vírus (A e B) são consideradas do mesmo sorotipo quando títulos neutralizantes heterólogos (antisoro A com vírus B e antisoro B com vírus A) difere menos de 20 vezes dos títulos homólogos (antisoro A com vírus A e antisoro B com vírus B). Normalmente os testes para sorotipagem são conduzidos por VN (De Wit, 2000). O agrupamento de amostras em genótipos, inclui métodos de seqüenciamento, detecção de partes genótipo-específicas do genoma por RT-PCR or determinação da posição do sítio de clivagem de uma determinada enzima. A utilização da genotipagem não é um método recomendado como ferramenta exclusiva em estudos de campo. Testes convencionais de sorotipagem e especialmente os estudos *in vitro* são necessários para complementar diagnósticos e decisões (Jia *et al.*, 1995; Hein *et al.*, 1998; Keeler *et al.*, 1998; *apud* De Wit, 2000).

Paralelo aos avanços na utilização da biologia molecular no estudo da BI das aves, novas amostras do vírus estão continuamente sendo detectados. Em 1991, na Inglaterra, começou a ser relatado em galinhas em produção vacinadas, sinais de doença com características incomuns a bronquite infecciosa. Estes surtos foram associados com um novo tipo de vírus, completamente diferente das amostras de VBI já descritas. O novo vírus foi denominado 793B por Gough *et al.*, e amostra 4/91 por Parsons *et al.* A doença relatada, apresentava mortalidade elevada e uma miopatia do músculo peitoral profundo (Gough *et al.*, 1992 e Parsons *et al.*, 1992 *apud* Cook, 1996). Os isolados de VBI relacionados a 4/91 apresentam uma ampla distribuição tecidual, que incluem os tratos respiratório, digestório e urinário. Dhinakar Raj & Jones (1996) estudando a imunopatogenia da infecção por essa variante isolaram o vírus após infecção experimental nos seguintes órgãos: traqueia, rins, pulmões, bolsa de Fabrício, glândulas de Harder, tonsilas cecais e trato gastrointestinal. No entanto, o vírus não foi isolado do músculo peitoral.

Entre 1990 e 1992 na região de Delmarva surtos de doença respiratória em galinhas foram causadas por um vírus ainda não descrito nos Estados Unidos. Esta amostra foi denominada DE072 e logo após, foi relacionada à amostra vacinal holandesa D1466. Os surtos foram controlados com uma vacina viva atenuada contendo a DE072 até 1996, quando novos relatos surgiram (Trevisol e Jaenisch, 2010).

Na China em 1996, surtos apresentando edema e úlceras hemorrágicas no pró-ventrículo e mortalidade de 15 a 89% das aves, caracterizou o envolvimento da amostra de VBI denominada “tipo pró-ventricular”. Ainda na China em 1998, pintinhos adoeceram com aparente depressão, os olhos inchados, lacrimejamento e diarreia, seguidos de sinais respiratórios. A morbidade foi de 100% e a mortalidade de 20%. Os exames pós *mortem* mostraram intensa inflamação no pró-ventrículo, e um único agente foi isolado e denominado VBI amostra QX. Quadros de nefrite e falsas poedeiras também estão sendo associadas à amostra QX na Holanda, na Bélgica, Alemanha e França desde 2004. Em 2008 a Inglaterra também relatou o isolamento da amostra QX (Trevisol e Jaenisch, 2010).

No Brasil a presença de amostras “variantes” do VBI também ocorre. Desde 1973 e 1979 ficou comprovada a presença de amostras nefropatogênicas (Lamas *et al*, 1979 e July e Hipólito, 1973, *apud* Silva 2010). A partir destes estudos pioneiros, a necessidade de utilizar uma vacina para BI ficou comprovada e foi aprovada em 1978. A utilização da vacina sempre apresentou resultados satisfatórios e ainda hoje, esse fato precisa ser considerado com cuidado.

A presença do sorotipo Arkansas foi descrita em 1985 por Brandem. Em 1987 por Di Fabio e em 1992 por Wentz, amostras com baixa relação antigênica com a amostra Massachusetts foram isoladas no país. Porém, são ainda muito escassos os estudos de variantes no Brasil que comprovem a baixa relação antigênica com a vacina disponível. Um dos dados científicos mais recentes é de 2000, onde Di Fábio e colaboradores, pesquisaram amostras de VBI em frangos e poedeiras e encontraram quatro diferentes sorotipos. Estes sorotipos foram diferentes entre si e entre outros isolados de outros países. Neste estudo, comprovou-se que sob condições experimentais, a vacina do sorotipo Massachusetts, quando administrada isoladamente no primeiro dia de idade, protege muito bem contra o desafio com 3 de 4 isolados brasileiros selecionados para representar os diferentes tipos antigênicos de VBI isolados.

Em 2006, novas amostras variantes foram descritas causando surtos da doença em frangos de corte e poedeiras no estado de Minas Gerais, e em 2007 as variantes aparecem associadas a casos de enterite e infertilidade de machos (Trevisol e Jaenisch, 2010).

A partir de 2003/2004, lesões atípicas de degeneração e necrose da musculatura peitoral superficial e profunda foram também relatada. Brentano *et al.* (2005) estudaram 3 lotes de matrizes pesadas com suspeita de BI atípica, os quais estavam apresentando mortalidade aumentada, apatia, dispneia, queda da produção e qualidade dos ovos, lesões renais e miopatia peitoral. A partir de materiais obtidos dessas aves, os autores conseguiram isolar o VBI. Além disso, eles detectaram o genoma viral através da técnica de RT-PCR. Esses pesquisadores conseguiram reproduzir um quadro de doença respiratória e renal *in vivo*. Contudo, não se obteve sucesso na reprodução da miopatia peitoral em aves SPF, indicando a necessidade de mais estudos para elucidar a patogenia dessa apresentação atípica da BIG (Brentano *et al.*, 2005).

Testes de proteção cruzada realizados em 2009 e 2010 com amostras consideradas “variantes” do ponto de vista da biologia molecular, mostraram que aves SPF vacinadas com Mass H120, apresentaram proteção para quatro variantes analisadas (Trevisol *et al.*, 2010).

Segundo Villegas (1997), a variabilidade de sorotipos de VBI em diferentes países é um dos fatores mais importantes no controle da doença. Embora cada área geográfica possa ter os seus próprios sorotipos, mais de um sorotipo pode ser predominante em cada área ao mesmo tempo, enquanto que o sorotipo predominante em cada área, em particular, muda com o tempo. Novos sorotipos de VBI continuam a serem descritos em todas as partes do mundo, inclusive no Brasil. Entretanto, o sorotipo *Massachusetts* continua a ser importante e é o tipo predominante em muitas áreas (Cook, 1997).

O Brasil tem controlado a bronquite infecciosa das galinhas com vacinação desde 1979, quando a primeira vacina foi licenciada (Silva, 2010). Falhas de proteção têm sido relatadas e a ocorrência de manifestações clínicas diversas, é associada às variações do vírus e o surgimento de amostras variantes (Back, 2009). Especula-se que essas variantes resultam em proteção cruzada “pobre” frente à amostra vacinal disponível. A identificação de variantes e a avaliação frente à vacina viva pretendem auxiliar o entendimento desses casos clínicos e a adequação dos procedimentos de controle.

Na Embrapa Suínos e Aves, a consolidação da metodologia de ensaios de proteção *in vivo* esta acontecendo paralelamente a implementação de um teste molecular quantitativo que complementar as leituras das traquéias. Além disso, estudos com marcadores moleculares de indução de resposta imune e um melhor entendimento dos mecanismos de ciliostase, estão também sendo investigados. Esses parâmetros, medidos por PCR em tempo real e as análises histopatológicas correspondentes, certamente darão maior robustez aos ensaios *in vivo*, e, portanto, uma melhor resposta a respeito da eficácia da vacina sorotipo Massachusetts frente às variantes brasileiras.

Bibliografia

BACK, A. 21º Congresso Brasileiro de Avicultura - *Anais*, 2009, Porto Alegre, RS; 211-215.

BRENTANO, L. et al. *Revista Brasileira de Ciência avícola*, suplemento 7; pg 232; 2005.

CAVANAGH, D.; D AVIS, P.J.; C OOK, J.K.A. Infectious bronchitis vírus: evidence for recombination within the Massachusetts serotype. *Avian Pathology*, v.21, p.401- 408, 1992.

CAVANAGH, D.; ELLIS, M.M.; COOK, J.K.A. Relationship between sequence variation in the spike protein of infectious bronchitis virus and the extent of cross protection *in vivo*. *Avian Pathology*, v.26, p.63-74, 1997.

CAVANAGH, D. and S. NAQI. 2003. Infectious bronchitis. In A. M. FADLY, H. J. BARNES, J.R. GLISSON, L. R. MCDUGALD, D.E. SWAYNE and Y. M. SAIF (eds.). *Diseases of Poultry*. 11th, Ed. Iowa State Univeristy. Press: Ames, IA, 101—120.

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

COOK, J.K.A. Bronquite infecciosa aviária. In: SIMPÓSIO SOBRE SANIDADE AVÍCOLA, 1997, São Paulo. *Anais*. São Paulo: FACTA, 1997. p.13-27.

COOK, J.K.A; SARAH, J.O.; MARTYN, A.W.; MICHAEL, B.H. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. *Avian Pathology*, v.28, p.477-485, 1999.

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

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

MURPHY, F.H.; GIBBS, E.P.J.; HORZINEK, M.C.; STUDDERT, M.J. *Veterinary Virology*. 3.ed. New York: Academic Press, 1999. p. 495-509.

SILVA, EN. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2010, v.12, n.3, 197-203.

TREVISOL, I.M. & JAENISCH, F.R.F. Bronquite Infeciosa das galinhas: crise atual. *Avicultura Industrial*, v.101, n.1187, p.14-18 e 20; 2010.

TREVISOL, I.M. et al. Trabalhos de Pesquisa José Maria Lamas da Silva . SA052 – CD-Room – Conferência Facta 2010b, Santos, SP.

TREVISOL, I.M. et al. In vivo assay of vaccine protection to Brazilian Variant strains of infectious bronchitis virus. WPC 2012 - Salvador - Bahia - Brazil • 5 - 9 August – 2012. *World's Poultry Science Journal, Supplement 1*, Expanded Abstract.

VILLEGAS, P. Control de reacciones respiratorias. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 16., 1997, México. *Anais*. México: 1997. p.388-391. ■
