



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA AVIÁRIA EM CRIAÇÕES NÃO
TECNIFICADAS DE GALINHAS NO DISTRITO FEDERAL**

BÁRBARA BRITO TOCANTINS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 098/2014

**BRASÍLIA/DF
MARÇO DE 2014**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA AVIÁRIA EM CRIAÇÕES NÃO
TECNIFICADAS DE GALINHAS NO DISTRITO FEDERAL**

Bárbara Brito Tocantins

Orientador: Prof. Dr. Francisco Ernesto Moreno Bernal

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 098/2014

BRASÍLIA/DF
MARÇO DE 2014

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

TOCANTINS, B. B. **Laringotraqueíte infecciosa aviária em criações não tecnificadas de galinhas no Distrito Federal**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 64 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e achase arquivado na Secretaria do Programa. O autor e seu orientador reservam para si os direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

T631L Tocantins, Bárbara Brito.
 Laringotraqueíte infecciosa aviária em criações não tecnificadas de galinhas no Distrito Federal / Bárbara Brito Tocantins. -- 2014.
 xiii, 64 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós Graduação em Ciências Animais, 2014.
 Inclui bibliografia.
 Orientação: Francisco Ernesto Moreno Bernal.

1. Ave. 2. Galinha - Criação - Distrito Federal (Brasil).
 3. Galinha - Doenças. 4. Epidemiologia. I. Bernal, Francisco Ernesto Moreno. II. Título.

CDU 636.5

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA AVIÁRIA EM CRIAÇÕES NÃO
TECNIFICADAS DE GALINHAS NO DISTRITO FEDERAL**

BÁRBARA BRITO TOCANTINS

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
ANIMAIS, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À
OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

APROVADA POR:

**FRANCISCO ERNESTO MORENO BERNAL, doutor (Universidade de Brasília)
(ORIENTADOR)**

CRISTIANO BARROS DE MELO, doutor (Universidade de Brasília)

**NELSON RODRIGO DA SILVA MARTINS, doutor (Universidade Federal de Minas
Gerais) (EXAMINADOR EXTERNO)**

BRASÍLIA/DF, 31 de março de 2014.

*Dedico este trabalho ao Rafael Paiva de França
pelo incentivo, apoio e por não ter medido
esforços para a realização deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por Seu amor infinito, por permitir minha existência e por ter me cercado de meios e pessoas maravilhosas e necessárias para a realização deste trabalho.

Agradeço aos meus pais Fernando César Tocantins e Teresinha de Jesus Brito Tocantins pela formação, apoio e amor em todos os momentos. Aos meus irmãos Fernando César Tocantins, Vinícius Brito Tocantins e Caroline de Lourdes Tocantins por me compreenderem como sou e me incentivarem nos estudos.

Ao Rafael Paiva de França pelo amor, incentivo e ajuda para traçar esse caminho.

Ao Prof.º Dr. Francisco Ernesto Moreno Bernal, exemplo profissional, pela orientação, ensinamentos e por permitir a execução deste trabalho.

À Profª Connie pelo auxílio e sugestões sobre a análise estatística.

Ao Dr. Bruno Dallago pelo apoio durante as diferentes fases deste projeto e preciosos conselhos profissionais. Agradeço ao Fernando Caixeta pela elaboração dos mapas. Ainda aos colegas do laboratório Hilana, Ângelo e Vinícius pela colaboração.

Agradeço à EMATER e todas as pessoas vinculadas à ela que permitiram a execução deste trabalho, como os técnicos que nos auxiliaram de forma amigável, aos proprietários que nos receberam em suas casas, confiaram em nosso trabalho e reconheceram sua importância.

Aos animais, motivo principal para o desenvolvimento deste projeto.

À CAPES – PROAP pelo recurso para compra de material de consumo e à CAPES pelos meses de bolsa de estudo.

Por fim, agradeço à Universidade de Brasília, responsável por minha formação profissional, que forneceu o embasamento teórico de que eu precisava por meio de um ensino de excelência, tanto pelo seu corpo docente, estrutura física quanto pelas oportunidades oferecidas ao longo destes anos.

ÍNDICE

RESUMO.....	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	xiii
CAPÍTULO 1	1
1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Objetivo	4
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Laringotraqueíte infecciosa aviária	5
2.1.1 Importância econômica.....	6
2.1.2 Histórico	7
2.1.3 Etiologia	8
2.1.4 Morfologia.....	9
2.1.5 Replicação viral	9
2.1.6 Sinais clínicos.....	10
2.1.7 Imunidade	11
2.1.8 Diagnóstico.....	11
2.1.9 Isolamento e identificação do agente causador	13
2.1.10 Diagnóstico diferencial.....	14
2.1.11 Estratégias de intervenção	14
2.1.12 Procedimentos de manejo.....	16
2.1.13 Vacinação	16
2.1.14 Medidas de controle e monitoramento	18
2.2. Criações de galinhas em sistema fundo de quintal.....	18
CAPÍTULO 2	20
PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS DA LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA AVIÁRIA EM CRIAÇÕES NÃO TECNIFICADAS DE GALINHAS NO	

DISTRITO FEDERAL (NOV 2012 – FEV 2013) E CARACTERIZAÇÃO DA AVICULTURA FAMILIAR ESTUDADA	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT	22
1 INTRODUÇÃO	23
2 MATERIAL E MÉTODOS	25
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4 CONCLUSÕES.....	50
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXO A – QUESTIONÁRIO DE INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA	54
ANEXO B – TABELA DE PROPRIEDADES VISITADAS.....	56
CAPÍTULO 3	58
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA AVIÁRIA EM CRIAÇÕES NÃO TECNIFICADAS DE GALINHAS NO DISTRITO FEDERAL

RESUMO

Bárbara Brito Tocantins¹, Francisco Enrensto Moreno Bernal²

¹Aluna, Universidade de Brasília – UnB, Brasília – DF

²Professor, Universidade de Brasília – UnB, Brasília – DF

A soroprevalência da laringotraqueíte infecciosa aviária (LTI) foi determinada tendo como unidades de análise galinhas (*Gallus gallus*) criadas em propriedades rurais não tecnificadas. O estudo epidemiológico foi realizado com base na análise laboratorial do soro das aves e na investigação de fatores de risco associados à ocorrência da infecção por meio de um questionário respondido pelos proprietários dos animais. O diagnóstico de anticorpos contra o vírus da LTI (VLTI) foi realizado pela técnica de Ensaio Imunoenzimático de Fase Líquida (ELISA) após a obtenção de soro colhido de 230 galinhas proveniente de 50 propriedades abrangendo 10 regiões rurais (RR) do Distrito Federal (DF). Das 230 galinhas testadas, 111 apresentaram-se sororreagentes para a doença, indicando uma prevalência de 48,26%, com intervalo de confiança entre 43,26% e 53,26%. Oitenta e dois por cento das propriedades pesquisadas apresentaram ao menos um animal soropositivo para o VLTI. Os parâmetros avaliados pela investigação epidemiológica não identificaram fatores de risco que contribuíram para esta alta prevalência, já que não houve diferenças estatísticas significativas entre animais positivos e os eventos ou manejo a que os animais foram submetidos antes do estudo. Ainda é necessário estabelecer uma rotina diagnóstica e epidemiológica para o VLTI com o intuito de evitar surtos e impactos econômicos.

Palavras-chave: aves; doença respiratória; ELISA; epidemiologia; soroprevalência.

AVIAN INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS IN BACKYARD POULTRY IN DISTRITO FEDERAL

ABSTRACT

Bárbara Brito Tocantins¹, Francisco Enrensto Moreno Bernal²

1 – Master degree student, Universidade de Brasília – UnB, Brasília – DF

2 – Professor, Universidade de Brasília – UnB, Brasília – DF

The seroprevalence of avian infectious laryngotracheitis (LTI) was studied in backyard poultry (*Gallus gallus*) in the Federal District, Brazil. The epidemiological study was based on laboratory analysis of serum from poultry and associated risk factors for disease occurrence using a questionnaire answered by the bird's owners. The diagnosis of antibodies against the LTI virus (VLTI) was carried out by ELISA technique (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) of serum from 230 chickens from 50 properties over 10 different rural regions (RR) of the Federal District (DF). One hundred and eleven birds showed positive reaction for the disease, indicating a prevalence of 48,26%, with a confidence interval between 43,26% and 53,26%. Eighty two per cent of those investigated proprieties showed at least one positive animal for VLTI. The parameters evaluated by epidemiological investigation could not identify risk factors that contributed to this high prevalence as there were no significant differences between positive animals and events or management that animals have been submitted prior to study. In addition, is needed to establish diagnostic and epidemiological routine for VLTI in the region to prevent outbreaks and negative economic impacts.

Key words: avian; respiratory disease; ELISA; epidemiology; seroprevalence.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2. 1 - Unidades locais da EMATER – DF.....	26
Figura 2. 2 - Plantéis visitados para a coleta de sangue distribuídos em regiões rurais do DF.	29
Figura 2. 3 - Quantidade de casos positivos diagnosticados nas diferentes regiões do DF.....	32
Figura 2. 4 - Ocorrência de anticorpos contra LTI nas diferentes regiões rurais do DF.	33
Figura 2. 5 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Pípiripau.....	34
Figura 2. 6 - Localização geográfica das propriedades visitadas em São Sebastião.	35
Figura 2. 7 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Tabatinga.	36
Figura 2. 8 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Jardim.	37
Figura 2. 9 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Taquara.	38
Figura 2. 10 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Alexandre de Gusmão.	39
Figura 2. 11 - Localização geográfica das propriedades visitadas no Gama.....	40
Figura 2. 12 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Sobradinho.....	41
Figura 2. 13 - Localização geográfica das propriedades visitadas em PAD-DF.....	42
Figura 2. 14 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Rio Preto.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Resultados do ensaio de ELISA para o vírus da LTI.	28
Tabela 2.2 – Quantidade de amostras positivas para a presença de anticorpos para o VLTI nas diferentes regiões do DF.....	31
Tabela B.1 - Propriedades visitadas nas regiões rurais do DF, sua classificação, número de amostras positivas, suspeitas, negativas e total de amostras analisadas.....	56

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
CAESB	Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal
CEO	Origem de embrião de galinha
DF	Distrito Federal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DO	Densidades ópticas
ELISA	Ensaio Imunoenzimático de Fase Líquida
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
GPS	Sistema de posicionamento global
GTA	Guia de Trânsito Animal
ICTV	Comitê Internacional para Nomenclatura de Vírus
Kb	Quilobase
Kg	Quilograma
LTI	Laringotraqueite infecciosa aviária
nm	Nanômetro
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PNSA	Programa de Sanidade Avícola
PsHV-1	<i>Psittacid herpesvirus 1</i>
RA	Regiões Administrativas
RR	Regiões rurais
SAS	“Statistical Analysis System”
SIG	Sistema de Informações Geográficas
SPF	Livres de patógenos específicos
SUASA	Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária
TCO	Origem de cultivo celular
VLTI	Vírus da Laringotraqueite Infecciosa Aviária
μ l	Microlitro
μ m	Micrômetro

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Dentre as múltiplas atividades que o agronegócio brasileiro abrange, a avicultura industrial ocupa papel de destaque e possui altos índices de produtividade, especialmente devido à tecnificação. A comercialização dos produtos da indústria avícola contribui com a balança comercial fazendo com que o Brasil seja o maior exportador mundial de carnes e o terceiro maior produtor de carne de frango, depois dos Estados Unidos da América e da China. Desse total, 69% da produção nacional é destinada ao consumo interno, sendo o consumo *per capita* de carne de 45 Kg (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA, 2013).

O país possui características cruciais que permitiram o desenvolvimento da produção aviária, como sua vasta extensão territorial, condições climáticas adequadas, grande mercado consumidor, baixo custo de produção pela abundância de insumos como grãos e disponibilidade de mão-de-obra, sistema de integração consolidado, indústrias modernas e por possuir o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) (BRASIL, 2009). O panorama nacional demonstra que constantemente há crescimento na produtividade favorecendo o fornecimento de carne e ovos de boa qualidade e de custo acessível à população.

O setor pecuário do Distrito Federal (DF) tem a avicultura como uma das explorações de maior destaque, cujos produtos atendem à demanda local e contribuem com ganhos comerciais consideráveis. A produção de carne de frango é da ordem de 84,3 toneladas e a de ovos 23.812.082 dúzias. Parte destes são destinados ao consumo humano e outra para a produção de pintos de um dia. O plantel do DF é formado por 39.242.645 cabeças (SILVA & CYTRANGULO, 2013).

A constância da oferta de produtos derivados de aves ao mercado consumidor interno e externo é o fim a ser alcançado pela produção industrial. Em contrapartida a este modelo, há a criação de subsistência, essencialmente não-tecnificada que incorpora à produção familiar recursos alimentares e financeiros, estes devido ao atendimento a um mercado consumidor menor e mais específico.

No DF há 2.113 produtores no setor da avicultura, sendo 1799 produtores com criações do tipo fundo de quintal. Dos 314 produtores de avicultura industrial, 135 têm atividade voltada para galinhas de postura e 179 para frangos de corte (SILVA & CYTRANGULO, 2013).

A participação das diferentes Regiões Administrativas na produção avícola industrial do DF varia com a quantidade do plantel. As mais expressivas são a RA II - Gama, que possui um plantel de 11.538.270 cabeças e colabora com 25,03% da produção de carne e 11,96% da produção de ovos, a RA VI - Planaltina com 19.559.313 cabeças e colaboração de 54,53% na produção de carne de frango e 66,86% na de ovos, a RA VII - Paranoá com 4.473.047 que contribui principalmente com a produção de carne (11,72%), a RA VIII - Núcleo Bandeirante cuja participação na produção de ovos é de 8,44% e a RA XIV - São Sebastião com 2.255.145 aves e participação em 5,34% da produção de carne e 6% da de ovos (SILVA & CYTRANGULO, 2013).

A avicultura extensiva no DF está concentrada nas regiões rurais (RR) de Alexandre de Gusmão, Brazlândia, Gama, Jardim, PAD/DF, Paranoá, Planaltina, Piripipau, Rio Preto, São Sebastião, Sobradinho, Tabatinga, Taquara, Núcleo Bandeirante e Ceilândia (EMATER, 2010).

Independente do modelo de produção adotado, a saúde das aves, vinculada à adoção de boas práticas de manejo e ao investimento em nutrição é primordial para que a produção avícola continue avançando e para que o potencial das aves seja aproveitado ao máximo. Entretanto, esses fatores não são observados em propriedades de criação de aves do tipo não tecnificada.

A laringotraqueíte infecciosa aviária (LTI) pode oferecer risco a qualquer tipo e tamanho de plantel avícola numa região devido à sua alta transmissibilidade, morbidade e mortalidade. A LTI já provocou perdas de produtividade no Brasil e mobilizou a defesa sanitária oficial do país (BUCHALA, 2008).

A LTI é caracterizada como uma doença viral contagiosa que afeta o trato respiratório de galinhas, provocando alta morbidade e mortalidade, além de diminuição da produção de ovos. Um fato relevante é a capacidade do vírus permanecer latente nos animais,

que se tornam portadores assintomáticos da doença e possíveis disseminadores quando estão em fase de eliminação do vírus (GUY & BAGUST, 2003).

Estudos epidemiológicos da doença no Brasil são raros, não sendo compreendida a real distribuição da LTI no país. Entretanto o reconhecimento da doença em outras regiões do Brasil estimulou esta pesquisa. Por ser uma doença listada na Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2014), o estudo de sua prevalência poderá estimar com maior precisão o risco real oferecido pelo vírus ao plantel avícola da região, além de permitir a definição de um programa de controle e prevenção futuro.

1.1 Objetivo

Determinar a prevalência de LTI em galinhas de criações não tecnificadas.

1.2 Objetivos específicos

- a) Detectar por teste diagnóstico sorológico anticorpos contra o vírus da LTI em galinhas.
- b) Verificar a ocorrência da infecção em diferentes regiões rurais do DF.
- c) Elaborar mapas geográficos da ocorrência da doença relacionando regiões e propriedades positivas e negativas.
- d) Coletar dados sobre o manejo adotado em criações não tecnificadas e relacionar com a presença ou ausência da infecção.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Laringotraqueíte infecciosa aviária

A laringotraqueíte infecciosa aviária (LTI) é uma doença viral de caráter infeccioso que afeta o trato respiratório de galinhas (*Gallus gallus*) provocando perdas produtivas devido à alta morbidade, mortalidade e queda de postura. Diferentes taxas de morbidade e mortalidade já foram descritas. Hayles *et al.* (1976) verificaram morbidade acima de 50% e mortalidade de 5 a 10%.

Os hospedeiros naturais da doença são galinhas (*Gallus gallus*) de qualquer idade, porém as aves com três semanas de idade são mais suscetíveis. Faisões e perus também podem ser afetados (GUY & BAGUST, 2003). Estes apresentam sintomatologia clínica como dispneia e depressão. Outras aves são resistentes ao vírus da LTI (VLTi). Não há registro de infecção em mamíferos (KALETA & DOCHERTY, 2007).

Estirpes do VLTi podem variar quanto a virulência, de modo que estirpes altamente virulentas produzem alta morbidade e mortalidade, enquanto estirpes de baixa virulência produzem infecções leves ou inaparentes. Sinais de respiração ofegante, expectoração de muco cristalino, purulento ou sanguinolento e alta mortalidade relacionam-se a infecções por estirpes que provocam infecção de caráter epidêmico e de maior virulência. Estirpes que provocam infecção de caráter endêmico provocam infecções com sinais moderados, variando entre traqueíte mucóide, sinusite, conjuntivite e baixa mortalidade (GUY & BAGUST, 2003).

O VLTi provoca danos epiteliais graves e hemorragia principalmente no epitélio da laringe e traqueia devido a sua replicação que provoca lise celular. Ele também

possui afinidade por outras membranas mucosas como a conjuntiva, seios respiratórios, sacos aéreos e pulmões (GUY & BAGUST, 2003).

A forma de transmissão é horizontal direta por secreções oronasais e indireta por fômites ou aerossóis. Os pontos de entrada são o trato respiratório superior e a via ocular. A transmissão vertical não é evidenciada (KALETA & DOCHERTY, 2007). Os sinais clínicos geralmente aparecem de seis a 12 dias após a exposição ao vírus.

A distribuição da infecção abrange regiões dos Estados Unidos da América, Europa, China e Austrália, cujos controles são feitos por vacinas. Em propriedades tecnificadas de criação intensiva, a curta permanência das aves associada a esquemas de higiene bem determinados e aplicados durante o vazio sanitário e durante o período de produção e a vacinação profilática evitam surtos da doença (GUY & BAGUST, 2003).

Não há tratamento eficaz que reduza as lesões provocadas pelo VLTI ou minimize os sinais clínicos. Após a ocorrência de um surto, a recomendação é vacinar aves sadias susceptíveis para o controle e prevenção da disseminação do vírus (GUY & BAGUST, 2003).

2.1.1 Importância econômica

Por ocasião de um surto da doença as consequências econômicas diretas não são facilmente determinadas. Entretanto os custos com o controle da doença por si só já demonstram o transtorno que a doença ocasiona. As perdas econômicas decorrentes de surtos de LTI derivam de gastos com vacinação, perdas devidas à morbidade, mortalidade e condenações de carcaça ao abate (HAYLES *et al.*, 1976). Estima-se que a indústria avícola mundial perca anualmente milhões de dólares em consequência da mortalidade induzida pelo VLTI, do atraso para atingir o peso de abate, do maior consumo de ração e da diminuição da produção de ovos (GUY & BAGUST, 2003).

No Brasil, surtos da doença apresentaram padrões elevados de morbidade porém nem sempre acompanhados de sinais clínicos claros. Entre os anos de 2002 e 2003, uma epidemia da doença provocou muitas perdas econômicas devidas à alta taxa de mortalidade observada na cidade de Bastos, no Estado de São Paulo, região que possuía uma população de 14 milhões de aves. Outro surto no Brasil em granjas de galinhas de postura, em

Minas Gerais, afetou aproximadamente oito milhões de galinhas, apresentando mortalidade média de 1 a 6% e morbidade atingindo cerca de 90% (PREIS *et al.*, 2013).

2.1.2 Histórico

A LTI foi assim nomeada em 1931 pelo “Special Committee on Poultry Diseases of the American Veterinary Medical Association”. Embora anteriormente tenha recebido diferentes nomes, como bronquite infecciosa, traqueolaringite, traqueíte infecciosa e difteria aviária. Acredita-se que sua ocorrência nos Estados Unidos da América remeta a meados de 1920, mas sua primeira descrição data de 1925, neste mesmo país. Surtos na Califórnia foram relatados em 1926 (COVER, 1996). À época de seu reconhecimento, assumiu a posição de doença de maior impacto econômico na indústria avícola dos Estados Unidos da América e do Canadá (BEACH, 1931).

Em 1930 o vírus causador da doença foi isolado de forma bem sucedida, cuja etiologia foi confirmada por teste de filtração e reprodutibilidade da infecção em galinhas ao usar o conteúdo filtrado, corroborando os postulados de Koch. Somente em 1963 o vírus foi identificado como um herpesvírus (COVER, 1996).

No Brasil a primeira descrição da infecção foi realizada por Hipólito *et al.* (1974) no Estado do Rio de Janeiro. Outras descrições de casos no mesmo Estado foram apresentadas por Araújo *et al.* (1982) entre 1981 e 1982. Em 1995 a análise sorológica por Ensaio Imunoenzimático de Fase Líquida (ELISA) confirmou a ocorrência da infecção no Estado do Rio Grande do Sul (VARGAS, 2000). Em 2003 o vírus foi isolado em plantéis avícolas do sul do Brasil (BELTRÃO *et al.*, 2004) e no Estado de São Paulo (ITO *et al.*, 2004), sendo este o surto de maior impacto relatado no país. Recentemente a presença do vírus foi confirmada no Estado de Minas Gerais (SILVA & RISTOW, 2007; PREIS *et al.*, 2013).

2.1.3 Etiologia

As espécies animais domésticas configuram hospedeiros naturais para diversos tipos de herpesvírus, o que propõe importância veterinária. Entre os membros da família de importância em aves há os herpesvírus de galídeos tipo 1 e 2, sendo este último de caráter oncogênico causador da doença de Marek (FRANCO & ROEHE, 2007).

Os herpesvírus têm a capacidade de permanecer em latência, tornando o hospedeiro portador sem infecção aparente, ou seja, sem sinais clínicos ou sem apresentar mortalidade por longos períodos. Neste estado de latência não ocorre replicação viral ou excreção, situação que pode ser revertida em ocasiões de estresse (FRANCO & ROEHE, 2007).

Os herpesvírus que infectam aves e mamíferos são taxonomicamente classificados na família *Herpesviridae*, que é dividida em três subfamílias, a *Alphaherpesvirinae*, a *Betaherpesvirinae* e a *Gammaherpesvirinae*. Para a classificação em gêneros, os critérios são a homologia das sequências de DNA (ácido desoxirribonucleico), relação antigênica, similaridades na estrutura e organização genômica.

De acordo com Comitê Internacional para Nomenclatura de Vírus (ICTV, 2014), o VLTI é membro da família *Herpesviridae* e compõe a subfamília *Alphaherpesvirinae*, gênero *Iltovirus* e espécie *Gallid herpesvirus 1*. Thureen & Keeler Jr (2006) propuseram que esse gênero seja compartilhado por outro herpesvírus que causa infecções em psitacídeos, o *Psittacid herpesvirus 1* (PsHV-1).

O VLTI possui sensibilidade ao éter, clorofórmio, outros solventes lipolíticos e ao calor, sendo que há resistência variável a este. O poder de infectar pode ser mantido por longos períodos a baixas temperaturas. Se armazenado entre -20 a -60°C pode permanecer viável por meses a anos. Em exsudato traqueal e carcaças de frango pode sobreviver por dias a meses em 13 a 23°C. Submetido a tratamento com 3% de cresol ou em solução de soda cáustica a 1% é destruído em um minuto. Em granjas, a inativação completa do vírus pode ser realizada com fumigação à base de formaldeído (37%) (IDE, 1979), podendo conter peróxido de hidrogênio a 5% (OU & GIAMBRONE, 2012).

2.1.4 Morfologia

Os vírions possuem nucleocapsídeos hexagonais de 80-100 nm de diâmetro, simetria icosaédrica e 162 capsômeros (FRANCO & ROEHE, 2007). São envelopados, descrição dada através de microscopia eletrônica (CRUICKSHANK *et al.*, 1963), variando de 195 a 250 nm de diâmetro. Os envelopes irregulares possuem glicoproteínas em sua superfície, sendo os principais as gB, gC, gD, gX, gK e gJ, que correspondem aos estimuladores de respostas imunitárias pelo hospedeiro. O genoma é constituído por uma dupla cadeia linear de DNA de 155 kb (HIDALGO, 2003), composta por duas regiões, longa (UL) e curta (US) (WILD *et al.*, 1996).

Os microRNAs em herpesvírus aviários, incluindo o VLTI, atuam como reguladores da expressão gênica viral e do hospedeiro, a fim de iludir a resposta imunitária do hospedeiro para estabelecer a replicação lítica e infecções latentes. Também ajudam a manter a viabilidade celular, bloqueiam a apoptose e facilitam a síntese de DNA viral (BURNSIDE & MORGAN, 2010).

2.1.5 Replicação viral

O vírus pode seguir dois padrões distintos de replicação determinando infecção aguda ou latente. O ciclo lítico, que provoca a infecção aguda, caracteriza-se por intensa produção de progênie viral que se estabelece no epitélio respiratório e em tecidos subjacentes, levando à perda de função por alterações estruturais e bioquímicas nas células. Após este ciclo, nucleocapsídeos virais são transportados via axônio por fluxo retrógrado aos neurônios dos gânglios sensoriais e entram em estado de latência. Este estado de inatividade pode ser revertido por situações de estresse, levando ao retorno dos vírus ao trato respiratório, local de infecção primária. Estes animais com infecção subclínica podem ser fonte de infecção (FRANCO & ROEHE, 2007).

O VLTI liga-se, no início da infecção, a receptores celulares que permitem a fusão do envelope com a membrana plasmática da célula hospedeira. Em seguida o nucleocapsídeo é liberado para o citoplasma e transportado até a membrana nuclear, pela qual o DNA viral entra no núcleo através dos poros nucleares para induzir a transcrição e a

replicação do DNA. O DNA é adicionado aos nucleocapsídeos pré-formados no núcleo, que ao migrar da membrana nuclear para o citoplasma adquirem um envelope (GUY & BAGUST, 2003). Uma grande quantidade de tegumento é adicionada aos capsídeos virais no citoplasma (GRANZOW *et al.*, 2001). Os vírions são liberados por lise celular ou fusão da membrana e exocitose (GUO *et al.*, 1993).

2.1.6 Sinais clínicos

Os sinais clínicos na forma aguda da doença são descarga nasal, tosse e respiração espasmódica, não é observada viremia evidente. Em casos mais severos aparecem exsudato pseudomembranoso sanguinolento ou fibrinonecrótico caseoso decorrentes de necrose da mucosa, edema subcutâneo, rompimento de capilares e infiltração linfocitária. Estes exsudatos podem obstruir a traqueia provocando óbito por asfixia (BORDIN, 1981).

Já na infecção subclínica a produção de ovos é reduzida, pode haver secreção ocular, conjuntivite, edema infraorbital, descarga nasal persistente e conjuntivite hemorrágica. A recuperação pode se dar de 10 a 14 dias após o surgimento dos sinais clínicos (BORDIN, 1981).

No surto em 2010 observado em Minas Gerais, Brasil, os sinais clínicos incluíram prostração, dispneia, conjuntivite, edema ocasional dos seios paranasais e secreção nasal mucosa e/ou sanguinolenta. Casos severos da doença apresentaram acentuada dispneia, aparente dificuldade para deglutição e as aves tornaram-se cianóticas antes da morte, as quais tinham o lúmen da laringe e parte cranial da traqueia obstruídos por exsudato fibrinoso denso. Outros sinais compreenderam conjuntivite com hiperemia intensa e edema, além de sinusite com exsudato caseoso (PREIS *et al.*, 2013).

Análises histopatológicas permitiram observar acentuada necrose e descamação do epitélio respiratório e da conjuntiva, além da presença de sincícios com corpúsculos de inclusão intranucleares e exsudato fibrinoso. Na lâmina própria foi observado infiltrado inflamatório mononuclear (PREIS *et al.*, 2013).

Jones *et al.* (1993) apresentaram a possibilidade da patogênese de LTI ser mais complexa que a comumente relatada, uma vez que encontraram o vírus nas articulações e ossos das pernas de frangos de corte e associaram esses achados como provenientes da medula óssea e não de alterações nos tecidos articular e ósseo.

2.1.7 Imunidade

A infecção por VLTI pode desencadear uma variedade de respostas imunitárias (YORK & FAHEY, 2008). Anticorpos neutralizantes de vírus, por exemplo, são detectáveis entre cinco e sete dias pós infecção com pico aos 21 dias e posterior redução. Secreções traqueais permitem a detecção de anticorpos aos sete dias pós-infecção. Embora ocorra transmissão de anticorpos maternos, eles não garantem proteção contra a infecção ou interferem com a vacinação (GUY & BAGUST, 2003).

2.1.8 Diagnóstico

O diagnóstico baseado em sinais clínicos não é suficiente para determinar a LTI, uma vez que doenças como bronquite infecciosa, doença de Newcastle, influenza aviária, coriza infecciosa e micoplasmose causam sinais clínicos e lesões semelhantes. É necessário, portanto, o diagnóstico laboratorial, incluindo testes sorológicos, isolamento viral e detecção de DNA.

A sorologia é um importante método indireto de diagnóstico de infecções na avicultura, pois mede as reações antígeno-anticorpo através do soro mesmo nos casos em que é difícil o isolamento do agente. A técnica de ELISA indireto detecta anticorpos, possui alta especificidade e sensibilidade, e permite o diagnóstico de múltiplas amostras (TESSARI & CARDOSO, 2011). O teste é utilizado como prova de triagem para LTI, tendo como vantagens sua praticidade, rapidez, fácil aplicação e necessidade de poucas quantidades de soro e antígeno (BAUER *et al.*, 1998). A detecção sorológica de anticorpos contra VLTI por ELISA caracteriza-se como um teste confiável (BAUER *et al.*, 1998; SANDER & THAYER, 1997).

Para o teste ELISA os soros devem ser diluídos, assim como os soro-controle positivo e negativo, e devem ser transferidos para uma microplaca previamente sensibilizada com o antígeno de LTI. Após a interação antígeno-anticorpo, a reação colorimétrica resultante pode ser mensurada por espectrofotometria em filtro de 405 nm (SOARES *et al.*, 2011).

Adair *et al.* (1985) ao comparar testes sorológicos atestou que o ensaio de ELISA apresentou maior especificidade que o teste de soroneutralização para a detecção e

titulação de anticorpos contra VLTII em soro de galinhas. Galinhas infectadas podem ser diagnosticadas como soropositivas aos sete dias pós-infecção. Títulos elevados de anticorpos podem persistir por um longo período, de quatro a sete semanas pós-infecção. Portanto a avaliação da distribuição da LTI em uma região pelo teste ELISA é recomendada em um inquérito epidemiológico (ITO *et al.*, 2004).

Ito *et al.* (2004) realizaram um inquérito sorológico utilizando ELISA para analisar soros coletados de aves de vários Estados brasileiros com sintomatologia respiratória. Diante dos resultados, sugeriram que o VLTII estava disseminado pelo país e que foi detectado com maior frequência em poedeiras comerciais e reprodutoras pesadas do que em frangos de corte.

Beltrão *et al.* (2003) testaram e compararam três métodos de diagnósticos a partir de uma estirpe de baixa patogenicidade de VLTII isolada no Brasil, proveniente de galinhas poedeiras após surto na região Sudeste em 2002. Inicialmente a doença foi reproduzida experimentalmente em aves susceptíveis e as traqueias foram analisadas após os dias de infecção pelos testes de “nested” PCR (reação em cadeia da polimerase), isolamento viral e histopatologia. Os resultados sugeriram que a “nested” PCR foi o método mais sensível, identificando o vírus em todas as amostras de traqueias aos 12 dias após infecção, considerado um longo período em que não havia mais sinais clínicos. A técnica de “nested” PCR e isolamento do vírus também foram utilizadas por Chacón *et al.* (2007).

Beltrão *et al.* (2004) realizaram diagnóstico de LTI por isolamento viral através de inoculação em ovo e PCR. O material de traqueias hiperêmicas encontradas foi usado para inoculação em embrião e posterior análise da membrana corioalantoide quanto a lesões necróticas e histopatologia voltada principalmente para a presença de sincícios e corpúsculos de inclusão intranucleares. Para PCR foram usados lavados de suabes traqueais. Ambos os testes foram sensíveis, tendo porém a PCR como diagnóstico mais rápido de ser executado.

O sequenciamento de dois fragmentos do gene ICP4 (proteína reguladora da transcrição) de VLTII foi considerado por Chacón & Ferreira (2009) um procedimento eficiente para a diferenciação de estirpes originárias de vacinas ou isolados de campo, uma vez que a caracterização e a diferenciação de estirpes envolvidas em surtos são essenciais para estudos epidemiológicos.

O sequenciamento genético completo da estirpe Serva de VLTII, proveniente de uma vacina comercial atenuada viva, foi descrita por Lee *et al.* (2011) e pode ser usado para comparar sequências posteriormente estudadas. Anteriormente, o genoma completo que se tinha de VLTII provinha da concatenação de sequências parciais de seis estirpes distintas.

Kirkpatrick *et al.* (2006) afirmaram que para identificação confiável de diferentes isolados de VLTI, se deve examinar várias regiões de genes incluindo gG, TK, ICP4, ICP18.5 e ORFB-TK por PCR RFLP (polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição de produtos da reação em cadeia pela polimerase). Dessa forma puderam revelar que os surtos de LTI pesquisados na Austrália não eram causados por estirpes vacinais.

Zhao *et al.* (2013) desenvolveram e avaliaram a PCR em tempo real como método diagnóstico para VLTI por apresentar maior rapidez, sensibilidade, reprodutibilidade, e a redução do risco de contaminações em relação aos testes sorológicos convencionalmente adotados, como as técnicas de imunofluorescência direta e indireta, ELISA, seroneutralização e imuno difusão em ágar gel (IDGA). Os autores sugeriram seu uso em estudos epidemiológicos para rápida detecção de vírus de campo, embora sem conseguir a determinação da origem do vírus. Villarreal *et al.* (2004) consideraram a PCR o método essencial em surtos, quando decisões rápidas de controle são necessárias, pois resultados puderam ser obtidos antes de 24 horas.

2.1.9 Isolamento e identificação do agente causador

Chacón *et al.* (2007) usaram para isolamento viral, no Brasil, “pool” de traqueias, pulmões e conjuntivas de galinhas poedeiras, que foram inoculados em ovos embrionados de galinhas. Casos positivos foram confirmados a partir de amostras de traqueia em 78% dos casos, da conjuntiva em 52% e dos pulmões em 22%. Todos esses órgãos foram considerados pelos autores como de eleição para a detecção viral. Afirmaram ainda que o “pool” de todos eles permitiu diagnosticar 100% dos casos positivos.

Zhao *et al.* (2013) infectaram experimentalmente aves livres de patógenos específicos (SPF) para analisarem a presença de DNA viral em diferentes tecidos e compararam os resultados de um grupo em exposição com um controle. Esses animais foram observados quanto aos sinais clínicos e analisados por PCR em tempo real após um, três, sete, 14 e 28 dias pós-inoculação. Amostras de DNA foram extraídas de coração, fígado, baço, pulmão, rim, laringe, língua, timo, estômago glandular, duodeno, pâncreas, intestino delgado, intestino grosso, tonsila cecal, bolsa cloacal e cérebro. Excetuando-se o grupo controle, os demais tiveram todos os tecidos positivos para o VLTI aos três, sete e 14 dias pós-inoculação,

diante disto, sugerem que todos estes tecidos podem ser utilizados para detecção da infecção por PCR em tempo real.

O isolamento do vírus também pode ser por propagação em culturas de células. Cinco delas foram testadas por Portz *et al.* (2008) para o isolamento de VLTI isolados no Brasil, o intuito também era diminuir os custos e tempo de obtenção gastos com cultivos tradicionalmente utilizados. As culturas foram: CER, Vero, CEF, HD11 e CEC-32. Os cultivos CER, Vero e CEF propiciaram a propagação viral, enquanto as demais não.

2.1.10 Diagnóstico diferencial

Os “primers” desenvolvidos para genes de ICP4 pela pesquisa de Chacón *et al.* (2009) apresentaram especificidade para detectar tanto vírus vacinal quanto de campo e não apresentaram amplificação de DNA de outros agentes, como o da anemia infecciosa das galinhas, doença de Marek, adenovírus aviário, *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*. Podendo servir de base para o diagnóstico diferencial dessas doenças.

Zhao *et al.* (2013) também usaram como método diagnóstico a PCR em tempo real, que não reage com outros agentes como vírus da doença infecciosa da bursa de Fabricius, da anemia infecciosa das galinhas, vírus da reticuloendoteliose, de reovírus, vírus da doença de Newcastle e vírus da doença de Marek.

2.1.11 Estratégias de intervenção

A vacinação é o método de prevenção mais comumente utilizado. Entretanto, em regiões endêmicas, medidas adicionais de biossegurança e boas práticas de manejo são fundamentais para a melhora do controle de LTI (OU & GIAMBRONE, 2012).

Buchala (2008) descreveu a implantação de um programa oficial de saúde animal para o controle da LTI na região de Bastos no Estado de São Paulo após a notificação da doença ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 27/12/2002. Região com a maior concentração de granjas de aves de postura de ovos do Brasil. O país ainda não havia lançado mão de medidas de defesa sanitária para controle da LTI. Após a

notificação, iniciou-se um processo de investigação epidemiológica com a consequente publicação da Portaria CDA nº 2 que, por sua vez, proibiu o trânsito de aves de postura para outros Estados e impediu a emissão de Guia de Trânsito Animal (GTA). Nesta fase, o agente etiológico foi isolado e identificado em amostras de galinhas com sintomatologia respiratória em três propriedades da região. A mortalidade observada foi da ordem de 10% e a queda das taxas de postura de ovos de 30%.

As medidas profiláticas adotadas foram a delimitação de zonas de infecção, de proteção e de vigilância; interdição de granjas na região; abate de aves de descarte em abatedouro específico; desinfecção da cama de aviário; e proibição de muda forçada. Foi implantado um esquema de vacinação que atingiu 100% das galinhas de granja. As vacinas vivas atenuadas importadas após autorização foram Nobilis ILT[®] (Azko-Nobel/Intervet), LaryngoVac[®] (Fort Dodge) e LT-IVAX[®] (Schering-Plough) para uso exclusivo na região de Bastos.

Os objetivos alcançados foram proteção vacinal; cadastro no serviço veterinário oficial de todas as granjas; normalização das taxas de mortalidade, letalidade, morbidade e produtividade; e declaração da região como “Área Controlada para laringotraqueíte infecciosa das aves com vacinação”.

No Brasil, a ocorrência da infecção não é bem elucidada, embora o PNSA estabeleça determinações para lotes de aves produtoras de ovos SPF e ovos controlados para a produção de vacinas inativadas. Ambos os tipos de lotes devem estar livres do agente patogênico ou sem anticorpos específicos e devem ser submetidos a monitoramento mensal por exames de ELISA e IDGA realizados pela Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA). O diagnóstico positivo provoca a suspensão do fornecimento de ovos SPF para comercialização e incubação (BRASIL, 2009).

O PNSA também apresenta normas para importação de ovos incubáveis de várias espécies de aves e de aves de um dia, as quais determinam que os produtos devem ser acompanhados de Certificado Zoosanitário Internacional e provenientes de progenitoras livres de caso clínico da doença (BRASIL, 2009).

2.1.12 Procedimentos de manejo

As enfermidades mais observadas na avicultura são as que acometem o sistema respiratório, ocasionadas por muitos fatores, desde microrganismos, agentes imunossupressores a condições ambientais desfavoráveis (PORTZ, 2008).

Nas criações não tecnificadas os efeitos provocados pela alta densidade observados em criações em galpões são diminuídos. Em especial, a qualidade do ar será melhor vista que nas indústrias, onde o ar pode estar repleto de gases que levam a lesões no epitélio respiratório e favorecem a instalação de agentes patogênicos oportunistas. Entretanto, a falta de cuidados higiênicos e de profilaxia adequada nas criações não comerciais prejudicam a sanidade e acarretam alta mortalidade (FERREIRA *et al.*, 2012).

Marietto Gonçalves *et al.* (2008), durante os anos de 2005 e 2006, analisaram a casuística de enfermidades respiratórias em aves atendidas no Laboratório de Ornitopatologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, campus Botucatu-SP (FMVZ-UNESP/Botucatu-SP) e atribuíram o aparecimento das doenças à facilidade de instalação de agentes patogênicos em aves pela conformação anatômica e fisiologia, associado ao manejo ruim por parte dos proprietários.

2.1.13 Vacinação

Em situações de surto de LTI é recomendado o uso de vacinas vetorizadas que são produzidas a partir da inserção de genes do VLTI em poxvírus que, por sua vez, atua como vetor viral evitando a transmissão do VLTI de plantéis infectados para aves não vacinadas e garantindo proteção ao desafio de campo (HIGUERA, LECHUGA & MERCADO, 2011).

Vacinas vivas atenuadas foram utilizadas para a prevenção da doença, elas eram originárias de embrião de galinha (CEO) ou de cultivo celular (TCO). Embora demonstrassem eficácia, poderiam ter considerável virulência residual, com potencial aumentado a cada passagem em animais. Tanto as estirpes vacinais vivas quanto as de campo podem gerar infecções latentes (HIDALGO, 2003). Há surtos provenientes de estirpes vacinais, como relatado por Shehata *et al.* (2013), que por um estudo filogenético perceberam

proximidade entre quatro isolados de frangos de corte com estirpes vacinais frequentemente utilizadas no Egito, verificando a reversão e seleção de estirpes virais com aumento de patogenicidade. Estudos alertaram para a possibilidade de recombinação entre estirpes vacinais com estirpes de campo em condições que favoreçam este evento, evidenciando o cuidado que deve ser dispensado com a utilização de vacinas vivas atenuadas (LEE *et al.*, 2012).

Fuchs *et al.* (2004) propuseram a utilização de vacinas vivas atenuadas contendo VLTII mutante com deleção de gene da glicoproteína gJ, por garantir boa imunização e permitir a discriminação sorológica entre galinhas infectadas por vírus de vacinas e de campo.

As estirpes vacinais infectam o sistema nervoso de forma similar às estirpes virulentas, se transmitindo à ave não vacinada, e pode induzir o surgimento da doença (GUY *et al.*, 1991).

Ainda não são bem esclarecidos os mecanismos de defesa do hospedeiro desencadeados por estirpes vacinais, Lee *et al.* (2012) ao compararem a resposta celular do hospedeiro contra estirpes virulentas (LEE *et al.* 2011) e vacinais perceberam que os efeitos citopáticos destes foram mais fracos que daqueles, as células hospedeiras desenvolveram recuperação de morfologia celular após lesões e o VLTII vacinal testado ocasionou pouca morte celular.

No Brasil (São Paulo) a estratégia de controle adotada em surtos foi a utilização de vacinas CEO e TCO, sendo necessárias pesquisas adicionais para avaliar a eficácia destas medidas de controle (CHACÓN & FERREIRA, 2009).

O uso de vacinas recombinantes ou vetorizadas pode ser uma alternativa mais segura para garantir a proteção imunológica das aves comerciais contra o vírus. Uma estirpe mutante deficiente de glicoproteína g apresentou considerável atenuação, imunogenicidade e adequação para utilização como vacina aplicada em larga escala com administração via ocular ou pela água potável. A avaliação de transmissão em situações experimentais demonstraram que a estirpe foi segura, além de desenvolver proteção contra estirpes de campo em aves vacinadas (DEVLIN *et al.*, 2011).

2.1.14 Medidas de controle e monitoramento

A erradicação do VLTI consiste em um difícil desafio em regiões endêmicas devido a permanência do vírus por longo período em muco traqueal, carcaças, fezes, cama, e presença de galinhas caipiras e outras aves infectadas (ITO *et al.*, 2004).

A vacinação de aves saudáveis de um mesmo lote no início de um surto pode prevenir a expansão da doença. Algumas medidas de controle e prevenção foram sugeridas por Back e Leão (2003), como por exemplo, controlar infecções secundárias pela administração de antibióticos de largo espectro, eliminar a cama aviária de lotes positivos ou submetê-la à fermentação de sete a 10 dias e promover o vazio sanitário de no mínimo duas semanas. Também alertou que aves de fundo de quintal podem ser reservatórios do vírus. As medidas de prevenção sugeridas incluíram a adoção de boas medidas de biossegurança que consistem em controlar o fluxo de aves, materiais, equipamentos, veículos e pessoal.

Davidson (2009) demonstrou a possibilidade de o diagnóstico de VLTI e a vacinação se darem por amostras de células epiteliais de penas das aves, por amplificação do vírus, evitando assim a morte do animal e sua necropsia, além de permitir a repetição da análise. Nos casos de vacinação pode ser determinado o “status” em até um mês após vacinação. Também permite a diferenciação entre estirpes vacinais e de campo.

A laringotraqueíte infecciosa aviária requer notificação imediata de qualquer caso suspeito no prazo máximo de 24 horas de seu conhecimento conforme o Anexo da Instrução Normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013 (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013) que listou as doenças sujeitas às medidas de defesa sanitária animal e de notificação obrigatória após suspeita ou confirmação por qualquer cidadão ou profissional que atue na área de diagnóstico, ensino ou pesquisa em saúde animal.

2.2. Criações de galinhas em sistema fundo de quintal

A procura por alimentos saudáveis e produzidos em condições naturais e a baixo custo tem aumentado por parte dos assentados e consumidores, o que incentiva a criação alternativa de frangos de corte denominada galinha caipira, colonial, de capoeira, entre outros. Neste tipo de criação as aves podem receber tanto ração quanto alimentos

disponíveis na propriedade, como quirera de milho, milho em grão, farelo de arroz, além de ter acesso à pastagem, insetos e minhocas.

A criação das aves domésticas em pequenas propriedades apresenta baixa produtividade e alta mortalidade por ter um modo de produção com padrões de manejo nutricionais e sanitários muito aquém do estabelecido em grandes empresas do ponto de vista tecnológico. As empresas avícolas, para alta produtividade, investem em qualidade genética, cuidados higiênico-sanitários e alimentação balanceada (FERREIRA *et al.*, 2012).

As galinhas de fundo de quintal historicamente introduzidas no Brasil adquiriram rusticidade, resistência a algumas doenças e adaptabilidade ao clima local, por não terem recebido práticas de manejo adequadas (BARBOSA *et al.*, 2007). Apesar desta característica, sua criação deve atender aos requisitos básicos para evitar problemas com a alimentação, sanidade e instalações. Uma das necessidades é deixar as aves livres de estresse atentando para a saúde animal, o bem-estar animal, práticas de manejo diferenciadas, alimentação adequada, escolha de espécies adaptadas às condições locais, instalações adequadas e destinação correta dos resíduos (VIEIRA, 2012).

A prevenção contra doenças causadas por bactérias, vírus, fungos e vermes deve ser uma preocupação constante na criação destas aves, uma vez que os custos com a contenção de uma determinada doença são mais elevados que os gastos com profilaxia (BERCHIERI & MACARI, 2000). O médico veterinário colabora substancialmente para atingir estes objetivos, por isso o seu acompanhamento periódico é essencial à criação.

A disseminação de agentes patogênicos em criações não-tecnificadas pode ocorrer pela introdução ou permanência de aves doentes ou portadoras assintomáticas no plantel, por contato com fômites contaminados, por carcaças de aves mortas, pela presença de roedores e animais silvestres, pelo fornecimento de água de má qualidade, por insetos e também pela contaminação por via aérea entre criatórios infectados próximos (Santos *et al.*, 2008).

CAPÍTULO 2

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS DA LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA AVIÁRIA EM CRIAÇÕES NÃO TECNIFICADAS DE GALINHAS NO DISTRITO FEDERAL (NOV 2012 – FEV 2013) E CARACTERIZAÇÃO DA AVICULTURA FAMILIAR ESTUDADA

RESUMO

A laringotraqueíte infecciosa aviária (LTI) é uma doença de caráter infeccioso que afeta galinhas podendo levá-las à morte ou provocando diminuição de produtividade decorrentes de lesões respiratórias. Embora a infecção possa trazer agravos econômicos e sociais, uma vez que muitas famílias produtoras de galinhas de fundo de quintal dependem da criação para subsistência e geração de renda, o perfil sanitário da região onde estão inseridas e a distribuição do vírus ainda não foi determinada. Em razão disso, foi conduzida uma investigação soroepidemiológica utilizando o teste diagnóstico de ELISA, tendo o Distrito Federal (DF) como área geográfica escolhida, por causa da ausência de informação quanto à distribuição da infecção. Foram estudadas 230 galinhas de 10 regiões rurais (RR) do DF: Pípiripau, São Sebastião, Tabatinga, Taquara, Jardim, PAD-DF, Gama, Sobradinho, Alexandre de Gusmão e Rio Preto. Detecta-se positividade e uma prevalência de 48,26% (111/230), resultados suspeitos em 23,9% (55/230) e negativos em 27,8% (64/230). Um questionário de investigação epidemiológica foi aplicado aos proprietários para indicar sob que condições de manejo as aves estavam sujeitas e sua relação com a positividade encontrada no teste. Os parâmetros avaliados pela investigação epidemiológica não identificaram fatores de risco que contribuíram para esta alta prevalência, já que não houve diferenças estatísticas significativas entre animais positivos e os eventos ou manejo a que os animais foram submetidos antes do estudo.

Palavras-chave: anticorpos, fatores de risco, regiões rurais, sorologia.

ABSTRACT

Avian infectious laryngotracheitis (LTI) is a disease that can affect mostly chickens (*Gallus gallus*) resulting in decreased productivity or death due to respiratory lesions. Although the potential to create economic and social losses (as a lot of families reared chickens using backyard methods and depend of these chickens to their subsistence and to generate profits) the sanitary profile of the region and the virus distribution has not been determined yet. Thus, a seroepidemiological investigation using ELISA in the Distrito Federal region was done due the information lack about the infection. 230 chickens were used from 10 rural regions (RR) in DF: Pípiripau, São Sebastião, Tabatinga, Taquara, Jardim, PAD-DF, Gama, Sobradinho, Alexandre de Gusmão e Rio Preto. Positively results and a prevalence of 48.26% (111/230) were detected while suspects results were found in 23.9% (55/230) and negative results were observed in 27,8% (64/230). An epidemiological questionnaire was applied to the bird's owners aiming to indicate the management conditions used and its relationship with positive results. The parameters evaluated by epidemiological investigation could not identify risk factors that contributed to this high prevalence as there were no significant differences between positive animals and events or management that animals have been submitted prior to study.

Keywords: antibodies, risk factors, rural regions, serology.

1 INTRODUÇÃO

Em razão da crescente demanda de alimentos, o Brasil vem atuando como um importante agente da cadeia produtiva de frangos no cenário mundial, devendo portanto apresentar um programa de controle de agentes patogênicos bem consolidado e eficiente. Com o intuito de gerar maior rentabilidade, o setor tem investido em qualidade sanitária, pois o controle de doenças infecciosas permite a otimização dos recursos e aumento do valor do produto final, permitindo o avanço da atividade produtiva. No Brasil, perdas econômicas referentes à mortalidade e baixo desempenho produtivo podem decorrer de doenças virais, dentre elas, a LTI pode ter notória responsabilidade em razão de sua elevada endemicidade.

A indústria avícola brasileira tem suprido o mercado consumidor da região graças a sua expressiva produtividade. Entretanto, a susceptibilidade dos plantéis à LTI é desconhecida, circunstanciada pela falta de estudos epidemiológicos e controle incipiente nas propriedades cujas produções são em áreas livres, de subsistência e com aves semiconfinadas. Há ainda precariedade nas medidas de biossegurança, pouca assistência técnica e falta de laboratórios especializados na região para detecção viral.

No Brasil não há dados da Organização Mundial de Saúde Animal sobre a ocorrência da doença no ano de 2013 (OIE, 2014), significando que não ocorreram surtos notificados no período. Entretanto, casos isolados ocorreram anteriormente no DF, o que justifica a preocupação em se pesquisar mais informações sobre a infecção.

Devido à ausência de informação e poucos dados de prevalência da infecção no país, este estudo busca caracterizar o perfil sanitário do DF para a LTI em criações não tecnificadas de galinhas. Outros estudos já foram realizados com o mesmo intuito, sendo avaliadas as doenças e lesões decorrentes de salmonelose (GUIMARÃES, 2006) e a resistência bacteriana à vancomicina (XAVIER *et al.*, 2008), trabalhos que também indicaram o risco zoonótico das doenças.

O estudo de prevalência permite uma avaliação descritiva da ocorrência dos eventos de saúde numa população em curto espaço de tempo, indicando a taxa de indivíduos positivos em relação à população total estudada, além de possibilitar investigar associações entre fatores de risco e a infecção. Para este fim, o diagnóstico por ELISA indireto tem sido muito utilizado em programas de monitoramento sorológico para diferentes doenças virais na indústria avícola, além de oferecer a vantagem de processar um grande número de amostras de soro em um único teste (VILLANUEVA, 2008).

Diante disto, o estudo foi conduzido para investigar a prevalência a partir da detecção de anticorpos induzidos por infecção viral prévia e para determinar a distribuição geográfica dos casos, classificando áreas rurais como de alto ou baixo risco no DF, decorrente de população soropositiva, negativa ou suspeita. O diagnóstico sorológico aliado ao inquérito epidemiológico permite a busca de fatores de risco como, por exemplo, o contato de aves sadias com secreções oronasais de aves portadores do vírus, a ausência de cobertura vacinal, a comercialização de aves de regiões endêmicas sem controle sanitário e inclusão destes no plantel, entre outros.

Para o controle e erradicação de uma doença é necessário o conhecimento das circunstâncias que condicionam o contágio ou a invasão dos indivíduos vulneráveis. A prevenção do vírus é mais eficiente nas criações intensivas industriais, em contraste às criações não-tecnificadas, pois estas últimas configuram ambientes que carecem de medidas sanitárias adequadas, cuja prevenção de doenças, métodos de higienização e desinfecção são inadequados. Adicionalmente, as galinhas podem albergar o VLTI de forma subclínica, dificultando a percepção da doença por parte do produtor, que não lança mão de medidas de controle, nem comunica às autoridades o problema, permitindo a transmissão do vírus para aves susceptíveis.

As propriedades alvo do estudo produzem galinhas de forma não tecnificada e extensiva, muitas delas com pequena quantidade de aves e com outras fontes principais de renda, como a agricultura ou a criação de outros animais. Geralmente funcionam sem gerenciamento ou acompanhamento técnico. A criação de galinhas na maioria das vezes tem caráter de subsistência, da qual se obtém carne e ovos. Alguns proprietários comercializavam as galinhas excedentes diretamente com o consumidor a um preço favorável para produtor, oferecendo renda para a família.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A delimitação das áreas pesquisadas foi baseada na divisão administrativa adotada pela EMATER (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural), que possibilitou a escolha e o acesso aos produtores rurais a partir das Unidades Locais da EMATER – DF (figura 2.1).

A determinação prévia do tamanho da amostra a ser coletada foi baseada no cálculo de amostragem aleatória simples (THRUSFIELD, 2004):

$$n = \frac{Z^2 P_{esp}(1 - P_{esp})}{d^2}$$

onde:

n = tamanho necessário da amostra

Z = valor da distribuição normal padrão correspondente ao nível de confiança desejado

P_{esp} = prevalência esperada

d = precisão absoluta desejada

Baseado no estudo de Owoade *et al.* (2006) que encontrou prevalência de 20% em reprodutoras da Nigéria, a prevalência esperada seria de 20%, com amplitude do nível de confiança de 90% e precisão absoluta desejada de 5%. O número de galinhas a ser investigado seria 173, para maior confiabilidade do teste e deixando margem para possíveis perdas amostrais foram coletadas 230 amostras provenientes de 50 propriedades distribuídas por 10 regiões rurais (RR): Pípiripau, São Sebastião, Tabatinga, Jardim, Taquara, Alexandre de Gusmão, Gama, Sobradinho, PAD-DF e Rio Preto coletadas no período compreendido entre os dias 20 de novembro de 2012 e sete de fevereiro de 2013.

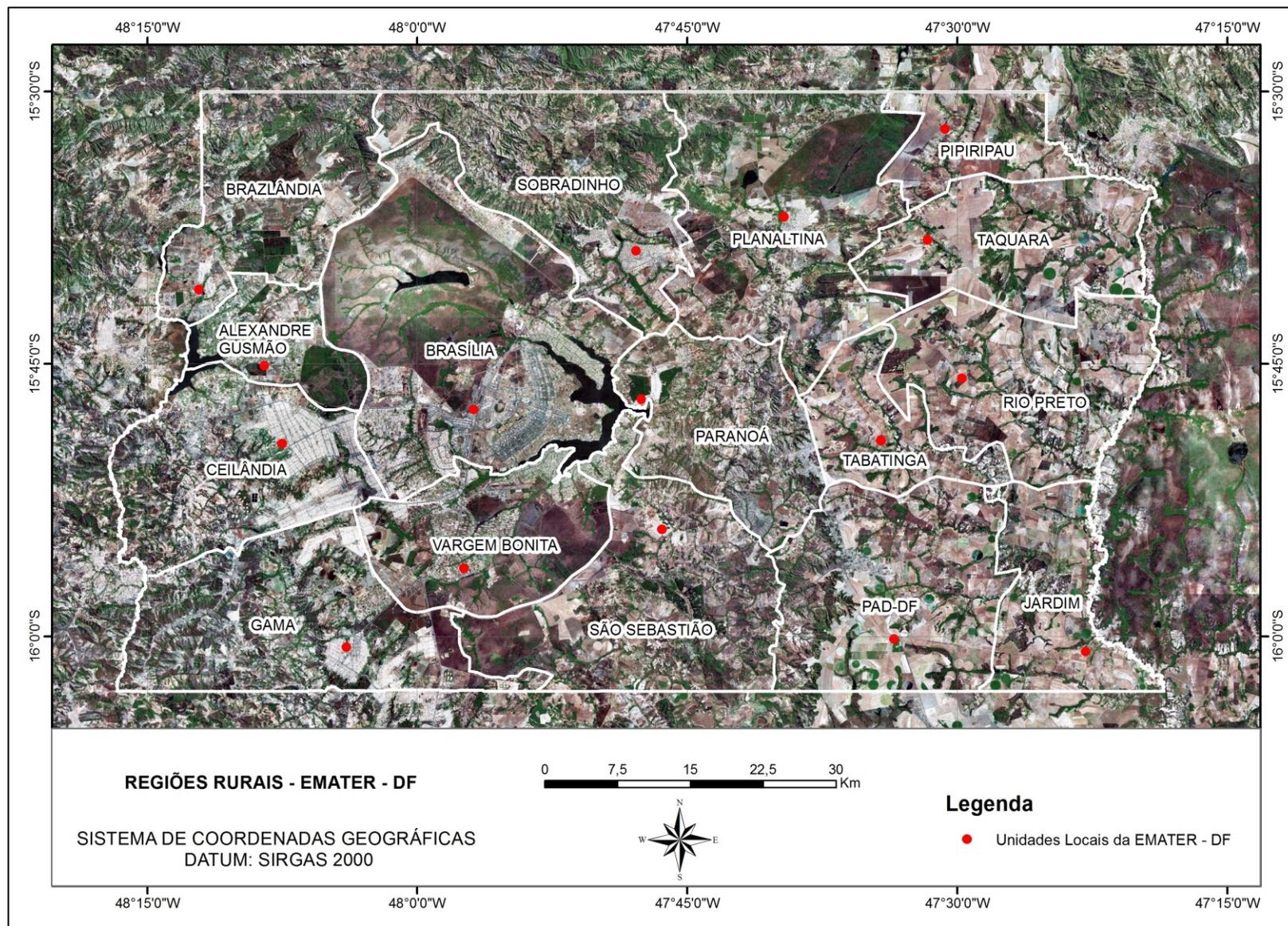


Figura 2. 1 - Unidades locais da EMATER – DF.

Foram visitadas cinco propriedades em cada região. Em cada propriedade quatro a cinco animais foram escolhidos aleatoriamente para a coleta de sangue com seringa e agulha descartáveis diretamente da veia jugular e os proprietários responderam a um questionário sobre a forma de criação das galinhas, sua procedência, se possuíam assistência técnica, idade dos animais e possíveis relatos de patologias (anexo A). As propriedades foram numeradas de um a 50 e classificadas como positivas, caso uma das amostras resultasse positiva, suspeita se nenhuma das amostras fosse positiva e pelo menos uma delas suspeita, e negativa quando todas as amostras fossem negativas (anexo B).

As coordenadas geográficas dos plantéis foram coletadas em campo com a utilização de GPS de navegação. Posteriormente os pontos referentes aos plantéis foram plotados em mapa com a utilização do SIG (Sistema de Informações Geográficas) ArcGIS 10, no sistema de coordenadas geográficas, Datum SIRGAS 2000. As imagens utilizadas foram provenientes do serviço “online” Bing Maps. Não há datação disponível para essas imagens. A figura 2.2 apresenta a distribuição dos plantéis em que os dados foram coletados.

Os dados avaliados foram divididos em identificação da propriedade, manejo adotado e histórico de doenças. Para a identificação da propriedade foram anotados o nome do proprietário, a região rural, o endereço, telefone e o “e-mail”, além de determinar o tipo de exploração econômica das aves, seja para fins de subsistência ou venda de ovos e/ou carne.

Quanto ao manejo, o modo de criação das aves foi classificado em soltas, confinadas, em gaiolas ou em galpões. Outros parâmetros foram referentes a: o número de galinhas e abrigos, o tipo de alimentação, a procedência da água, o tipo de bebedouro usado, a origem das galinhas, a aplicação de vacinas, a entrada na propriedade de pessoas desconhecidas, a limpeza de objetos de uso na propriedade, o uso de desinfetantes, o controle de roedores e como era o descarte de resíduos e lixo.

Sobre o histórico de enfermidades, os proprietários relataram se já havia ocorrido doença na propriedade, há quanto tempo, se sabiam dizer qual era, se teria ocorrido mortalidade e se teriam praticado algum tipo de tratamento, seja ele recomendado por um médico veterinário ou não. Caso a resposta fosse afirmativa para a observação de doença, eram questionados quanto à observação de sinais de doença respiratória e se algum fator teria contribuído para o ocorrido, como o calor excessivo, déficit de vitaminas e minerais, problemas com alimentação ou introdução de aves.

Outros dados ainda se encaixaram na análise da propriedade, como o contato das galinhas com animais silvestres, a criação concomitante de outras espécies animais, a

presença de ectoparasitas e o uso de vermífugo. As alterações de produção observadas também foram questionadas, como a diminuição na produção de ovos.

Para o diagnóstico sorológico, o sangue de cada galinha foi disposto em tubos sem anticoagulante e o soro foi submetido ao teste de ELISA sendo processado em laboratório segundo as recomendações do fabricante do kit CIVTEST AVI ILT[®] (HIPRA, 2013).

A reação colorimétrica mensurada por espectrofotometria em filtro de 405 nm a partir do teste de ELISA permitiu quantificar os anticorpos presentes no soro (SOARES *et al.*, 2011). A interpretação dos resultados é resumida na tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Resultados do ensaio de ELISA para o vírus da LTI.

Coefficiente M/P	Título LTI	Resultado
Menor ou igual a 0,150	0-387	Negativo
Entre 0,150 e 0,250	388-688	Suspeito
Maior que 0,250	≥689	Positivo*

*Significa que o animal foi exposto a antígenos do VLTI devido à vacinação ou enfermidade.

Todos os dados coletados foram submetidos à análise de cluster e de regressão logística para averiguar se algum dos fatores avaliados poderia contribuir para a ocorrência de LTI. Para tanto foram utilizados os procedimentos PROC LOGISTIC e PROC CLUSTER em nível de significância a 5% no SAS (“Statistical Analysis Institute, Cary, North Carolina”).

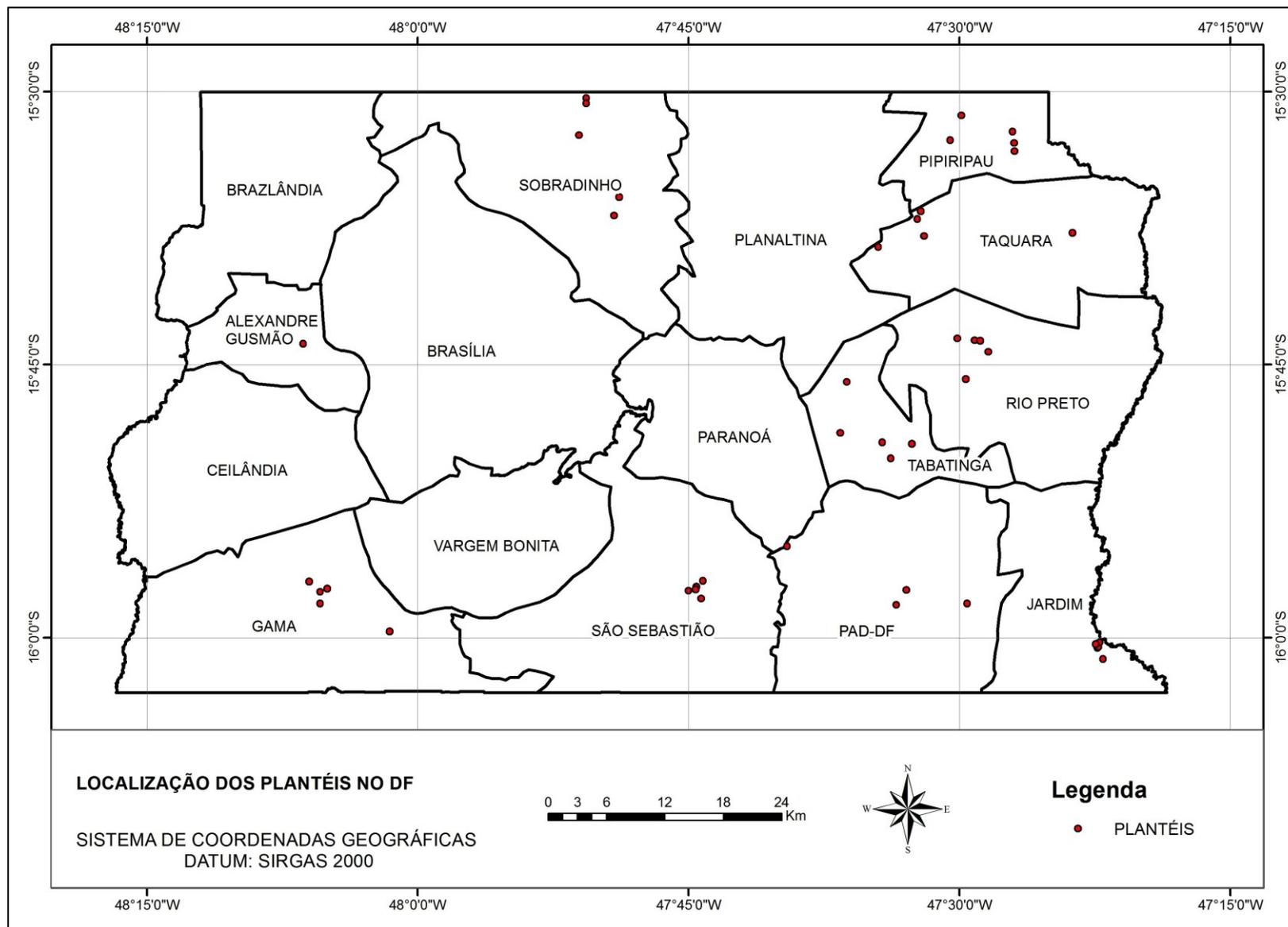


Figura 2. 2 - Plantéis visitados para a coleta de sangue distribuídos em regiões rurais do DF.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados absolutos revelaram a presença de anticorpos anti-VLTI em 111 das 230 amostras de soros examinados indicando uma prevalência de 48,26%. Em adição, 55 amostras foram consideradas suspeitas (23,91%) e 64 negativas (27,82%).

Buim *et al.* (2011) ao compararem diferentes técnicas de diagnóstico para LTI ocorrida em surto em São Paulo confirmaram alta sensibilidade do teste ELISA ao contrário do teste IDGA, que não detectou amostras positivas. Ainda sugeriram a utilização de ELISA em conjunto com os testes de PCR e histopatologia. O surto aconteceu na cidade de Guatapar e o estudo epidemiológico foi conduzido pela equipe do Programa Oficial de Controle e Erradicao de LTI no Estado de São Paulo.

A distribuio das propriedades visitadas (representadas por pontos)  apresenta na figura 2.3, os pontos com diferentes cores indicam a quantidade de casos positivos diagnosticados (Anexo B.1). Pontos verdes estão associados a propriedades que tiveram de zero a um caso positivo, pontos amarelos indicam dois a três e pontos vermelhos quatro a cinco casos positivos, sendo esta situao considerada a mais crítica. As regiões que tiveram propriedades com todas as amostras coletadas positivas e que são representadas por pontos vermelhos na figura 2.3 são Tabatinga, Jardim, Alexandre de Gusmão, Gama e Rio Preto.

Os resultados apontaram diferentes padrões de distribuio da presença de anticorpos em cada região, mas todas com elevados índices de ocorrência (Tabela 2.2.; Figura 2.4). 82% das propriedades foram classificadas como positivas totalizando 41 unidades, contrastando com o percentual de negativas, que foi de apenas 4%, ou seja, duas propriedades negativas, o restante foi considerado suspeito (14% com sete propriedades). 10% das propriedades tiveram um total de cinco amostras testadas resultando em positivas.

Tabela 2.2 – Quantidade de amostras positivas para a presença de anticorpos para o VLTI nas diferentes regiões do DF.

Região	Amostras positivas	%
Pipiripau	11	47,82
São Sebastião	11	47,82
Tabatinga	13	56,52
Jardim	10	43,47
Taquara	5	21,73
Alexandre de Gusmão	11	47,82
Gama	17	73,91
Sobradinho	6	26,08
PAD-DF	11	50,00
Rio Preto	16	66,66
Total	111	-

As localizações geográficas das propriedades visitadas em cada uma das regiões são apresentadas nas figuras 2.5 a 2.14. As propriedades foram identificadas por pontos e numeradas de acordo com a ordem de visita.

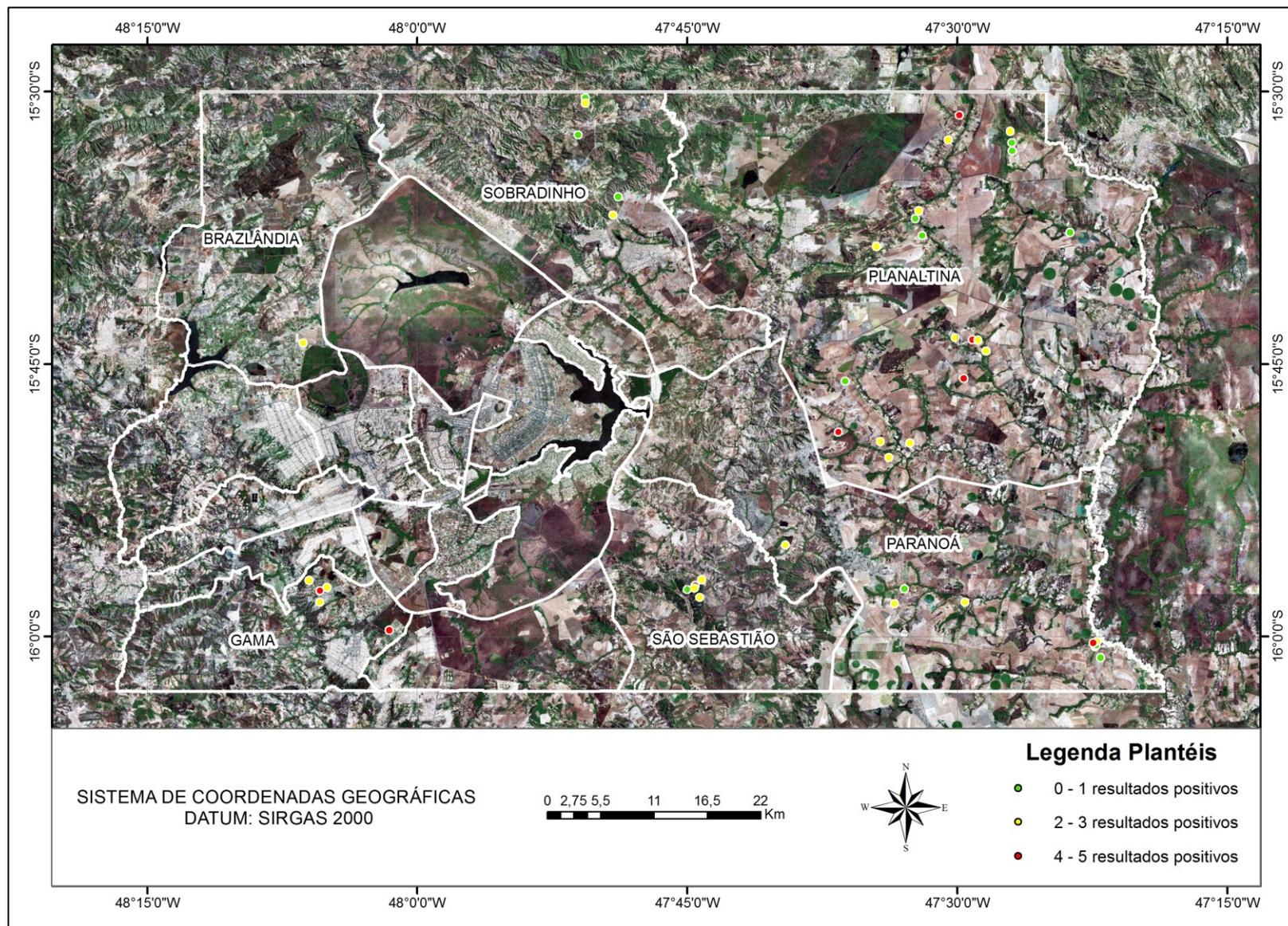


Figura 2. 3 - Quantidade de casos positivos diagnosticados nas diferentes regiões do DF.

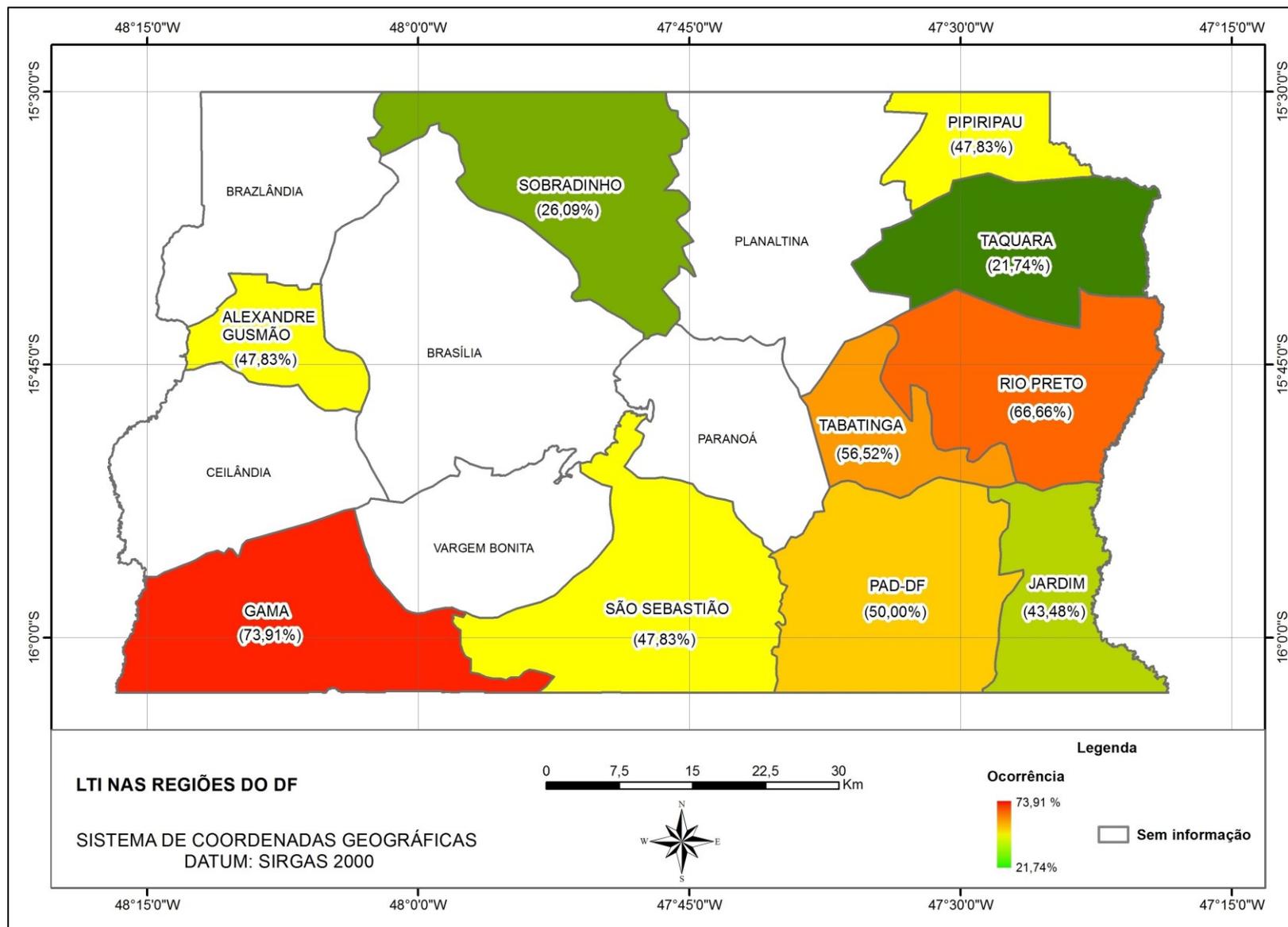


Figura 2. 4 - Ocorrência de anticorpos contra LTI nas diferentes regiões rurais do DF.

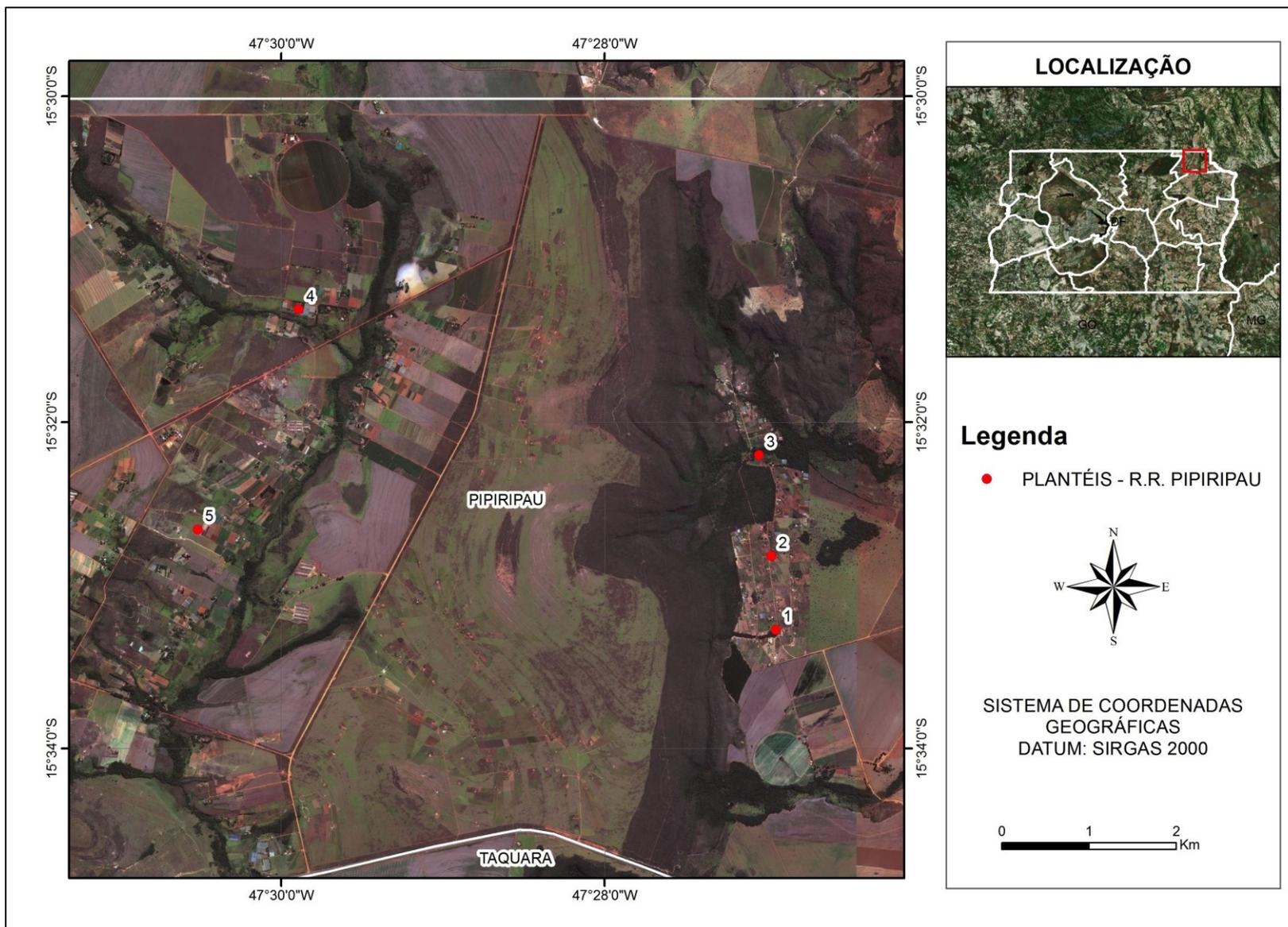


Figura 2. 5 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Pipiripau.

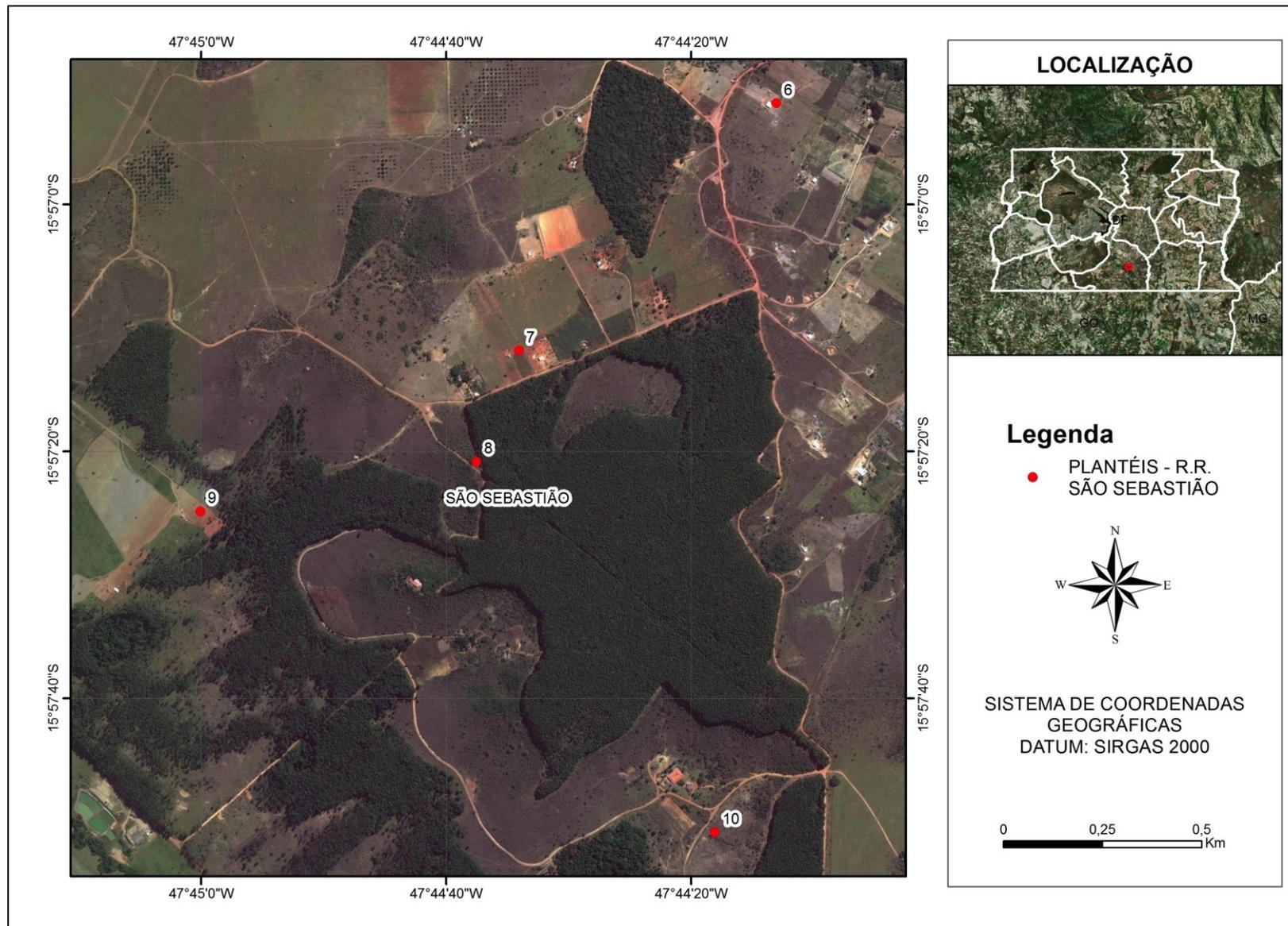


Figura 2. 6 - Localização geográfica das propriedades visitadas em São Sebastião.

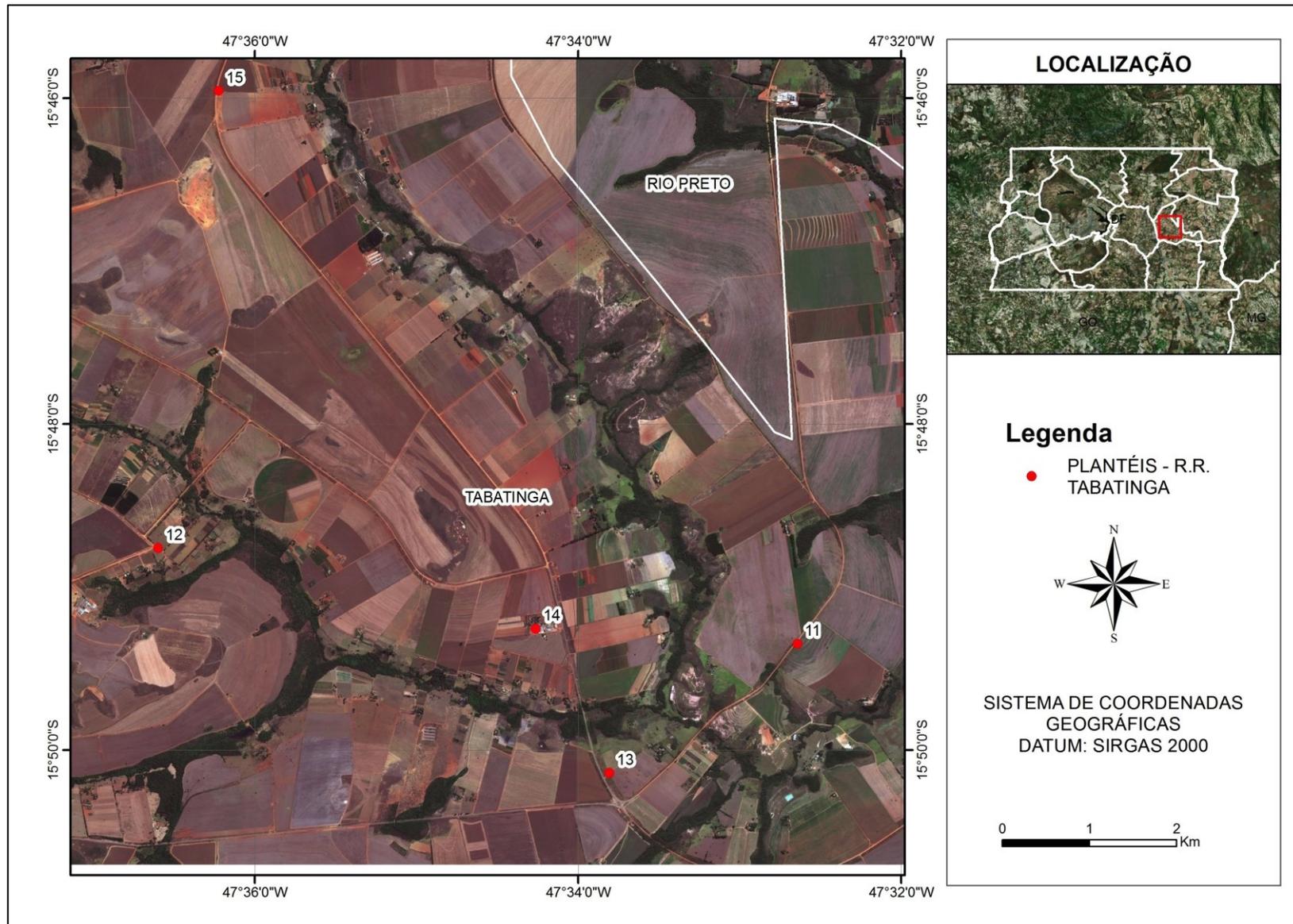


Figura 2. 7 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Tabatinga.

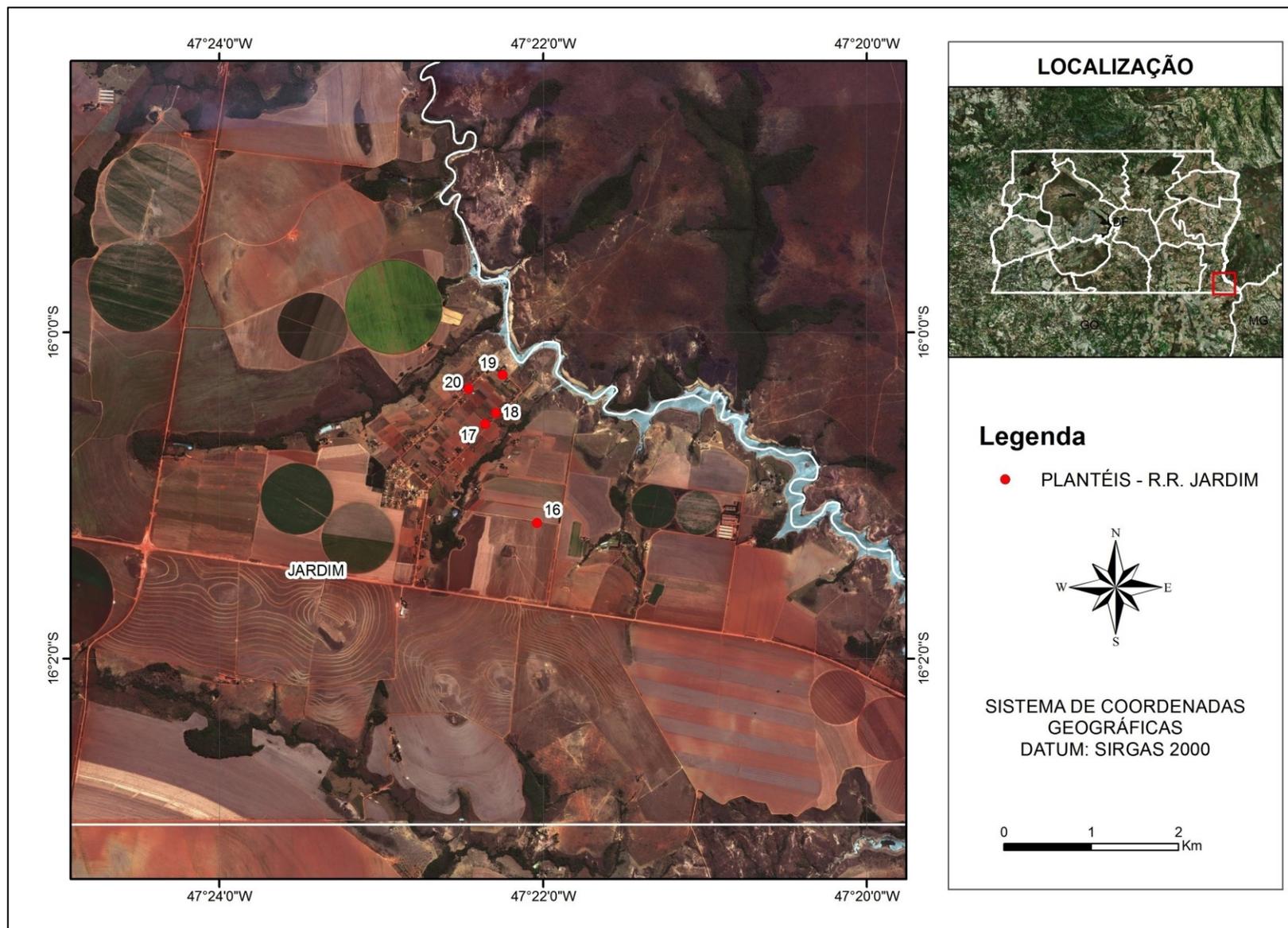


Figura 2. 8 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Jardim.

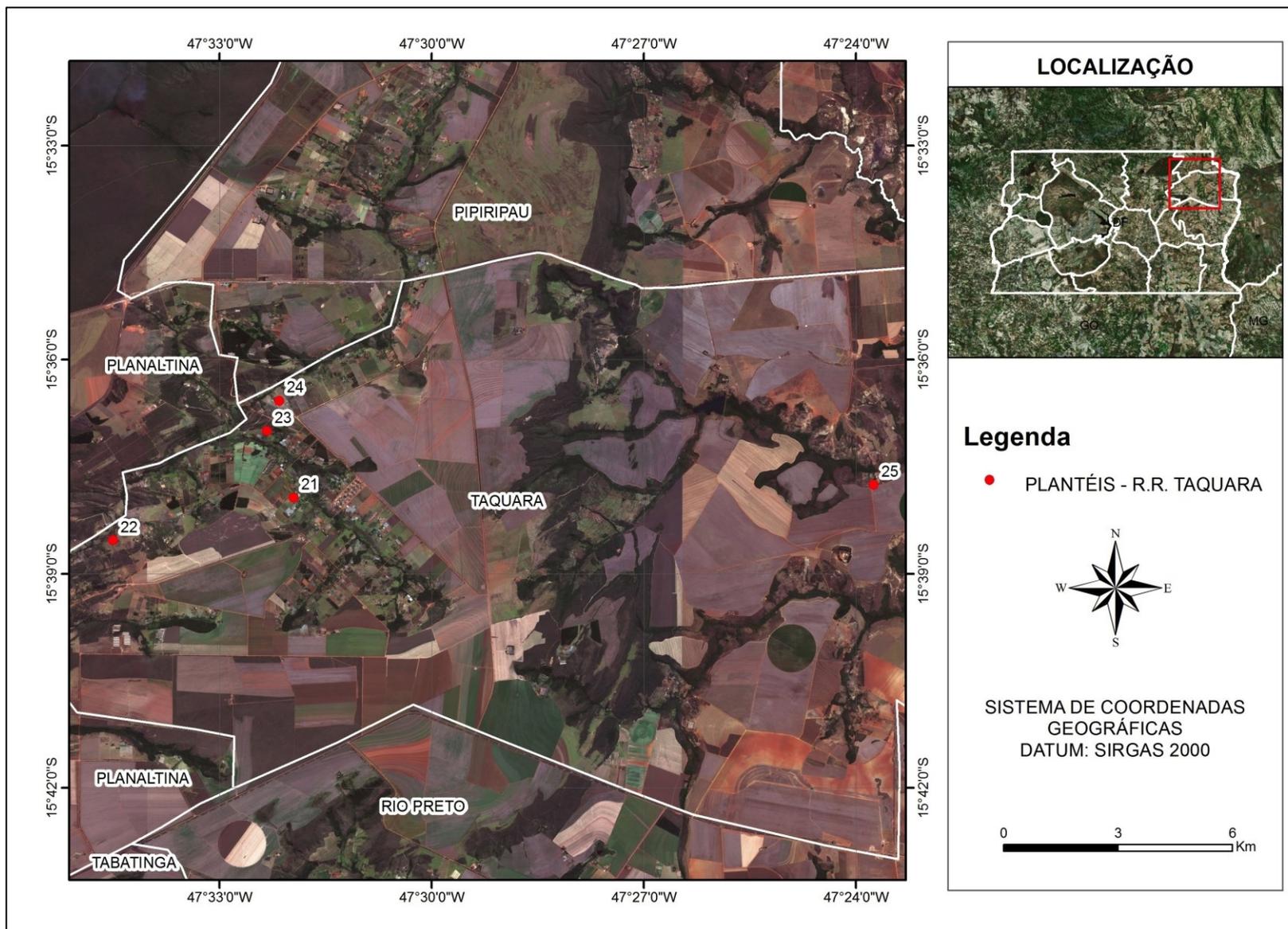


Figura 2. 9 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Taquara.

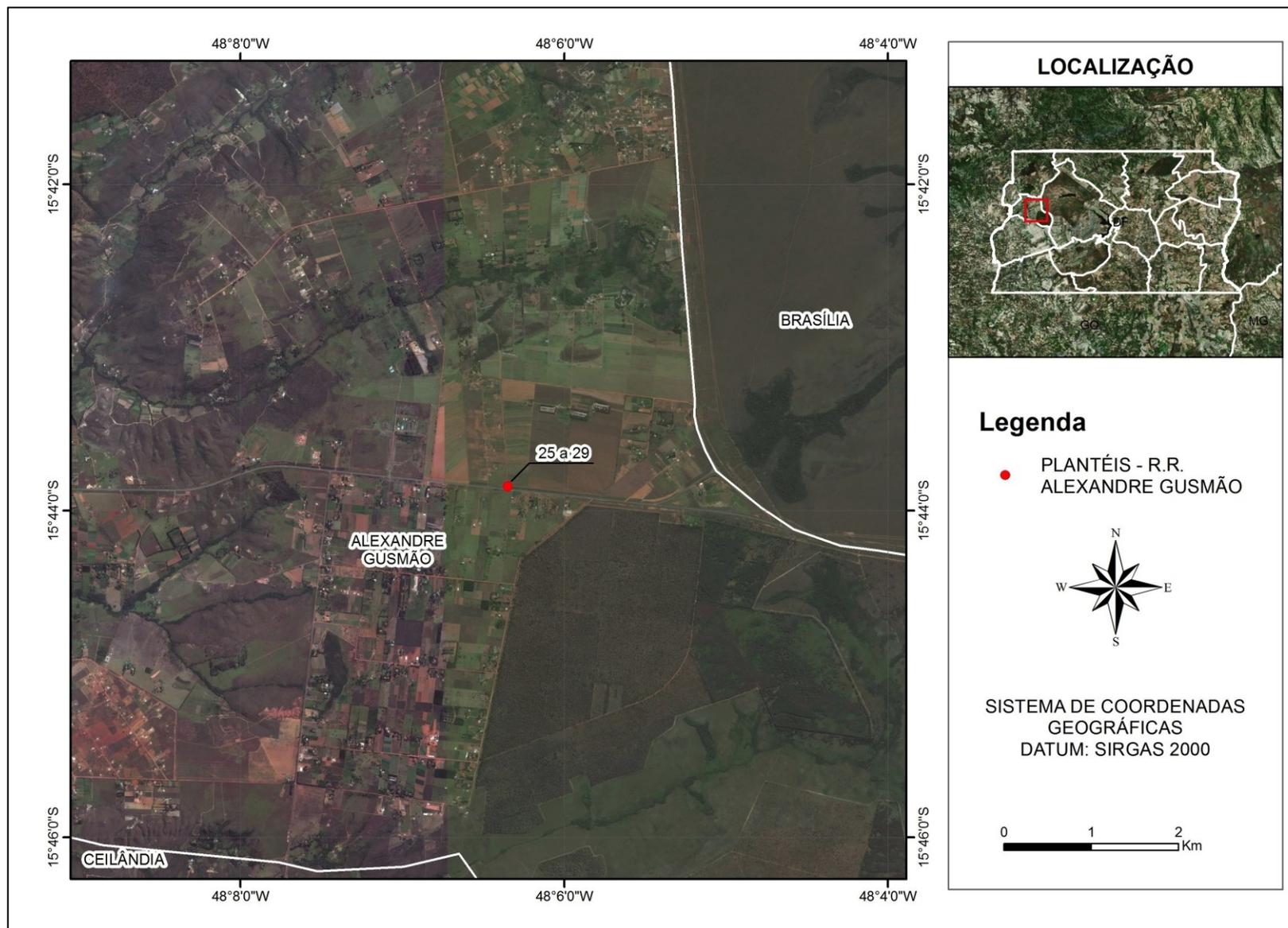


Figura 2. 10 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Alexandre de Gusmão.

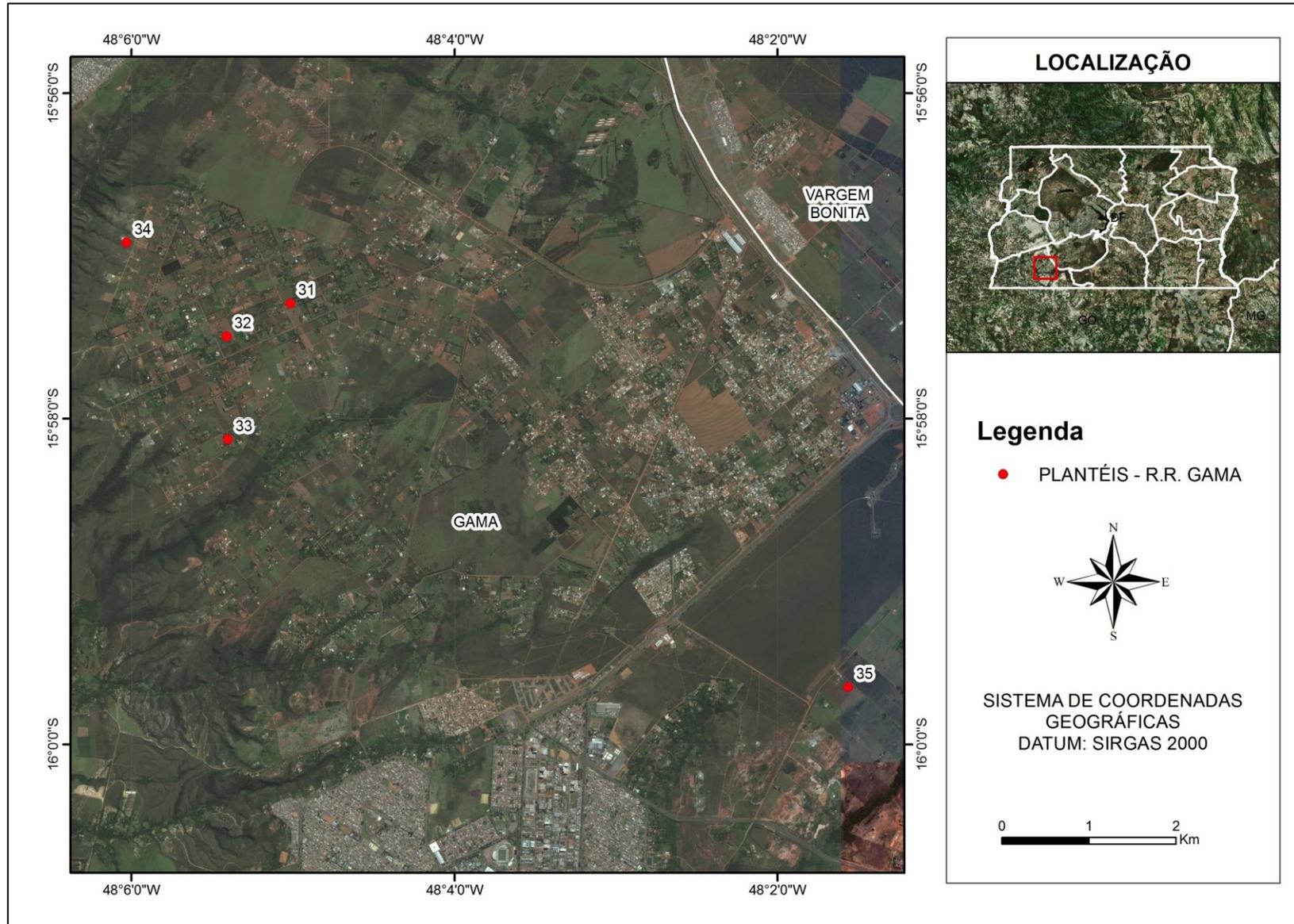


Figura 2. 11 - Localização geográfica das propriedades visitadas no Gama.

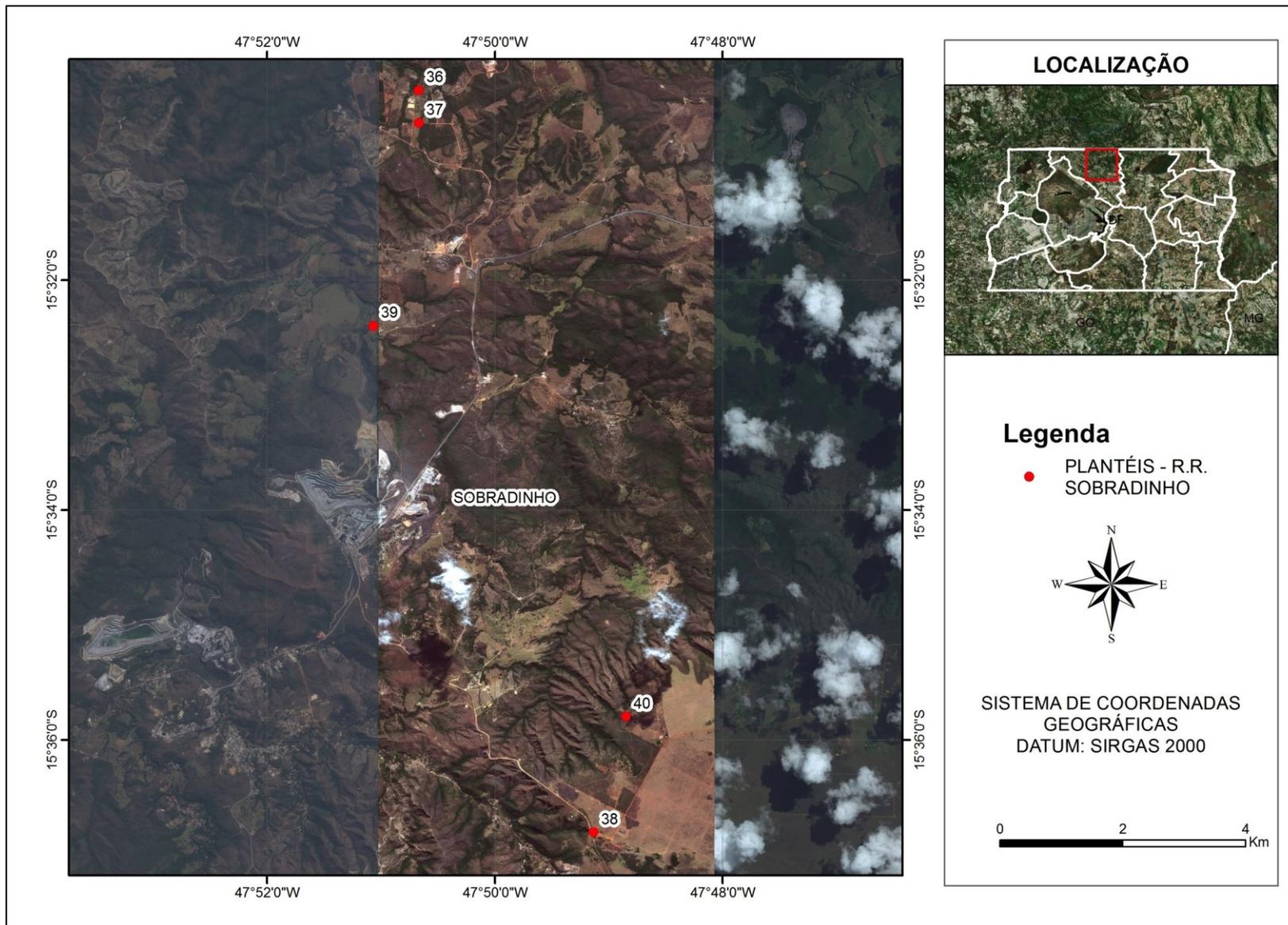


Figura 2. 12 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Sobradinho.

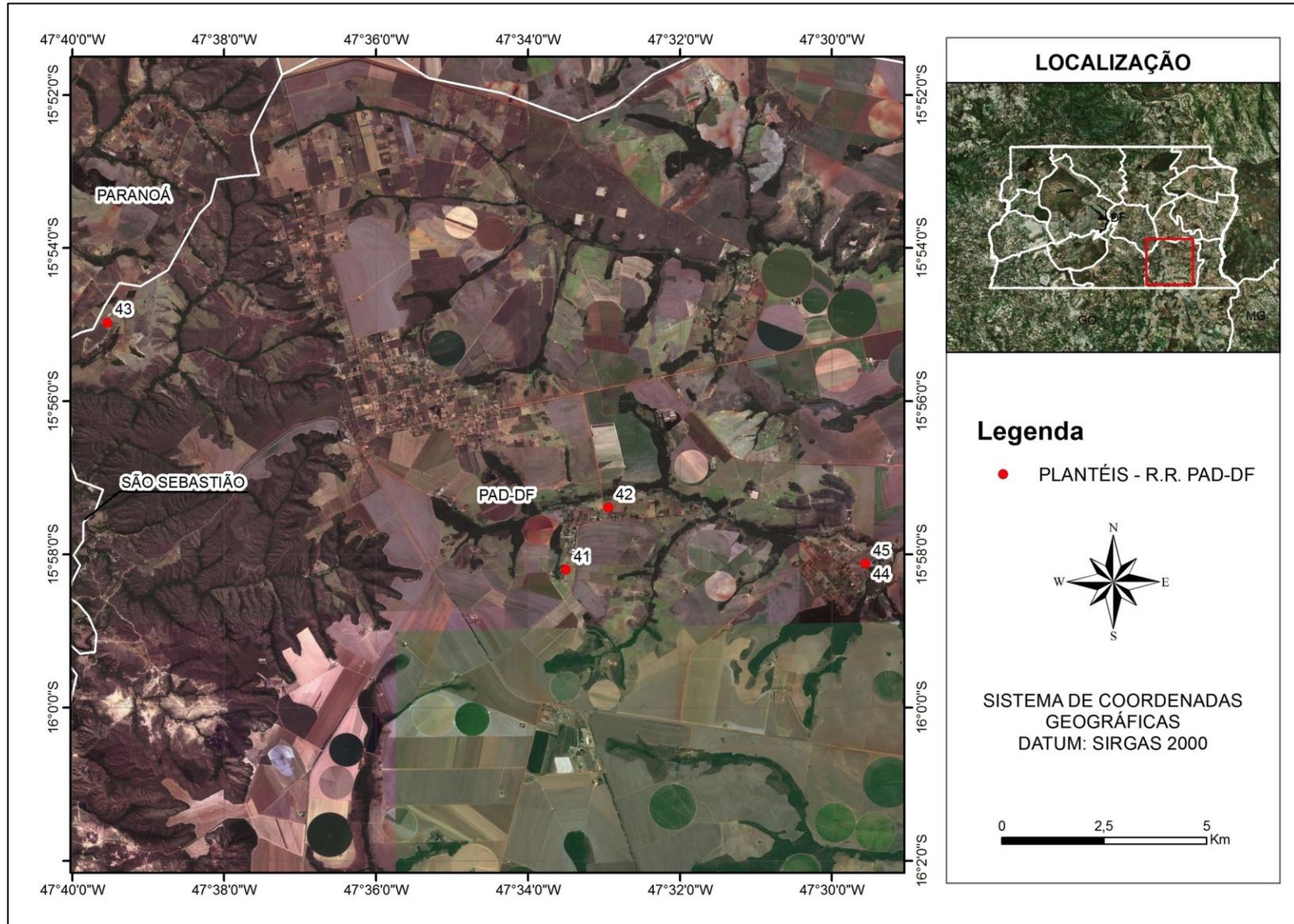


Figura 2. 13 - Localização geográfica das propriedades visitadas em PAD-DF.

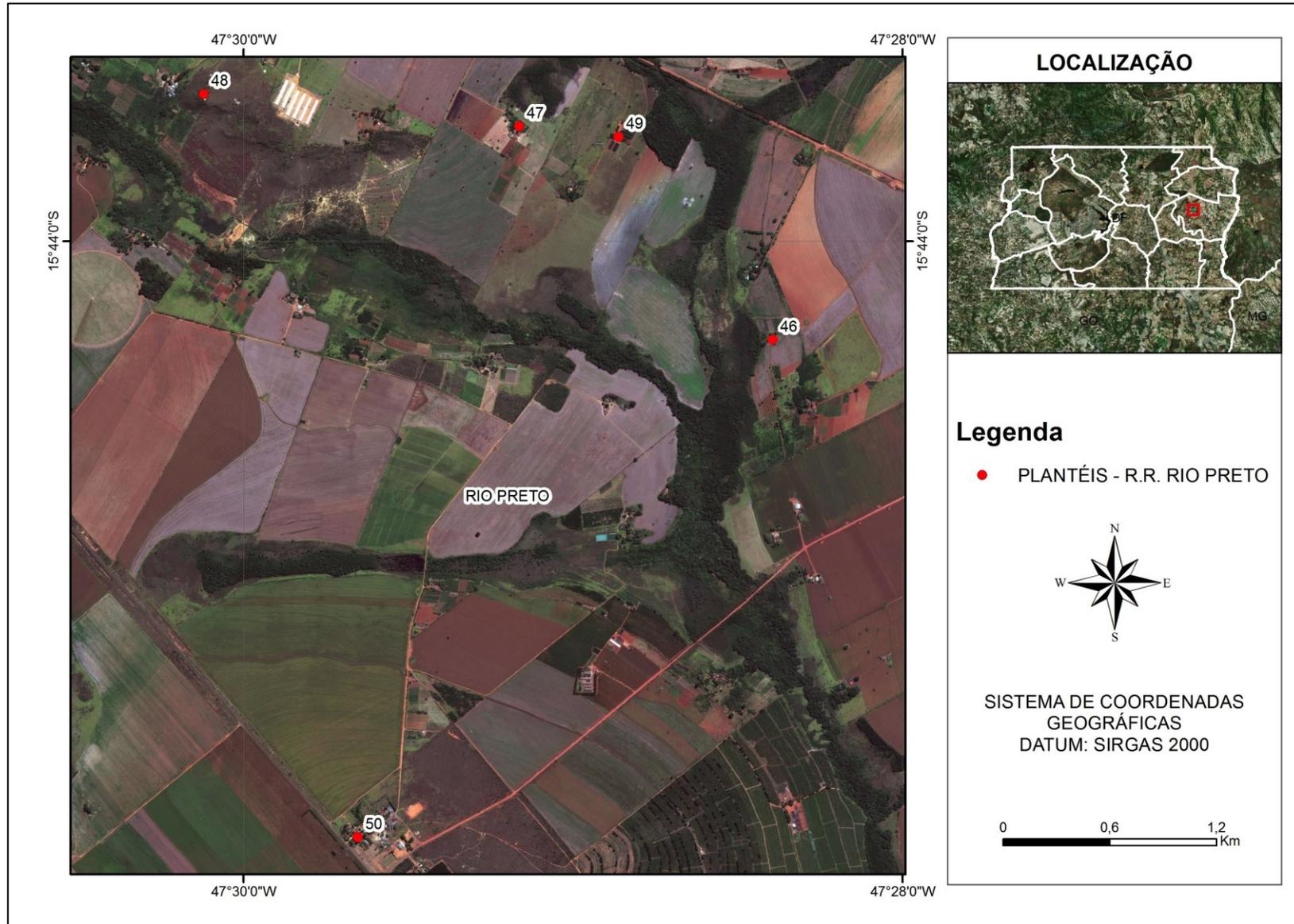


Figura 2. 14 - Localização geográfica das propriedades visitadas em Rio Preto.

A vacinação no Brasil é controlada por órgãos de defesa animal e no DF nunca foi instituído um programa de controle vacinal contra a LTI, portanto acredita-se que os casos positivos são decorrentes de infecção após contato com o vírus. Dados do surto de LTI em São Paulo indicaram que não havia sido instituído vacinação para LTI na região antes do aparecimento da doença, nem casos anteriores haviam ocorrido (CHACÓN *et al.*, 2007), ao contrário do DF que já apresentou casos isolados. Por exemplo, em junho de 2008 ocorreu um surto no DF que afetou 64.966 aves domésticas das 69.000 susceptíveis, ocasionando 45.625 mortes (OIE, 2014). O controle foi feito sem vacinação (BUCHALA *et al.*, 2011).

A presença de altos títulos de anticorpos sugere o contato dessas aves com o vírus de campo, uma vez que os animais não foram vacinados. Sales *et al.* (2007) chegaram a esta mesma conclusão ao estudarem anticorpos para a doença de Newcastle em aves de fundo que quintal, alertando para a susceptibilidade dos plantéis avícolas comerciais adquirirem a doença por não apresentarem boa cobertura vacinal. A situação no DF é semelhante já que as galinhas comerciais não são submetidas à vacinação, autorizada somente em controle de surtos (VILLANUEVA, 2008).

Beltrão *et al.* em 2004 já haviam confirmado a presença do vírus no Brasil. Nesse estudo os pesquisadores usaram suabes e tecidos de traqueia para a detecção do vírus, coletados de 10 lotes de aves com sintomas respiratórios, dos quais três resultaram positivos. Embora houvesse histórico de isolamento viral e detecção de anticorpos para VLTI anteriormente, a doença era considerada exótica no país pelo MAPA.

O estudo de Villarreal *et al.* (2004) também confirmou a presença do vírus em amostras de galinhas poedeiras provenientes de um surto no Estado de São Paulo. O diagnóstico foi por PCR e sequenciamento genético. Assim como neste estudo, não puderam determinar a origem viral, se de vacina ou estirpes de campo e, por isso, sugeriram mais estudos para este fim, o que permitiria determinar a fonte de infecção e as vias de transmissão.

Em um estudo de epidemiologia de VLTI é muito importante instituir em uma dada região o diagnóstico de estirpes do vírus para diferenciar sua origem, se proveniente de vacina ou estirpe de campo, já que ações profiláticas e medidas de controle são facilitadas quando se conhece a diversidade molecular das estirpes em uma área de estudo (VILLARREAL *et al.*, 2004). Técnicas moleculares envolvendo o DNA viral, como PCR e sequenciamento genético vêm sendo utilizados com sucesso para este fim (LEE *et al.*, 2011; CHACÓN *et al.*, 2009). Entretanto, baixas concentrações de partículas virais podem dificultar o diagnóstico do VLTI. Altas concentrações são mais comuns entre os dias dois e quatro pós-

infecção e tendem a diminuir até o dia seis. Depois desse período não são mais detectáveis (BAGUST, 1986).

Como a escolha dos animais do DF não partiu de ocorrência de sinais clínicos, nem da suspeita de surtos, a utilização de testes de diagnóstico viral poderia detectar somente uma pequena parcela da população, ou seja, aqueles animais recentemente infectados. Logo foi escolhido um teste sorológico para investigar a distribuição da doença, por ser mais abrangente e servir como uma triagem inicial. É necessário mais estudos para detecção do VLTI e instituir um programa de prevenção e controle. Testes confirmatórios também devem ser utilizados. Em um controle epidemiológico futuro a PCR pode ser um teste útil para diagnosticar as aves suspeitas (VILLARREAL *et al.*, 2004).

A identificação da estirpe viral circulante no DF contribuirá com informações epidemiológicas da doença e facilitará a escolha de um programa de controle e profilaxia eficiente. Blacker *et al.* (2011), tentaram identificar as estirpes virais de campo ou vacinais envolvidas em surtos na Austrália, além de tentar determinar as relações epidemiológicas entre eles, concluindo que a maior parte das estirpes virais responsáveis pelos surtos ainda não haviam sido relatadas. Da mesma forma, há a possibilidade de novas estirpes estarem circulando no DF, justificando novos estudos sobre o assunto.

Chacón & Ferreira (2009) compararam estirpes provenientes de surtos no Brasil e Peru com amostras de estirpes vacinais atenuadas, encontrando diferenças entre elas, logo sua origem foi considerada por eles desconhecida. Sugeriram ainda em seu estudo que aves não comerciais podem ser uma importante fonte de infecção para aves comerciais, já que o tipo de criação permite a manutenção do vírus. A comparação dos vírus encontrados em ambos os tipos de criação pode ajudar a compreender sua origem e relação durante surtos. Ainda destacam a possibilidade da entrada do vírus nestes países por importação ilegal de aves não comerciais de países vizinhos.

Este estudo também alerta para o risco de exposição a que os indivíduos susceptíveis estão submetidos, além da possibilidade de transmissão viral para produções de galinhas próximas às áreas positivas, incluindo as de cunho comercial, podendo gerar tanto danos sanitários, quanto prejuízos comerciais. Há relatos de infecção concomitante entre aves comerciais e aves de grupos menores, não comerciais (HAYLES *et al.*, 1976).

Como a criação de galinhas de fundo de quintal não é contemplada pelas ações de biossegurança aplicada às criações comerciais, o estudo de outras doenças aviárias ocasionadas por vírus também é recomendado no DF para traçar o perfil sanitário da região, saber a distribuição das doenças e seu real impacto nas criações. Santos *et al.* (2008)

investigaram, pela técnica de soroneutralização, anticorpos em galinhas caipiras não vacinadas provenientes de 60 propriedades do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram detectados anticorpos contra bronquite infecciosa das galinhas em 65% das amostras, contra reovírus aviário em 21,6% e contra o vírus da doença infecciosa da bolsa em 80,2% das aves.

No surto de LTI em Bastos, uma granja foi diagnosticada com o vírus da bronquite infecciosa e oito com VLTI e *Mycoplasma synoviae* (CHACÓN *et al.*, 2007). A hipótese de haver coinfeção de VLTI com outros agentes infecciosos respiratórios não pode ser descartada no DF.

Este estudo preliminar pode ser usado como base para um planejamento em saúde populacional, no caso de galinhas de fundo de quintal, permitindo futuramente uma proteção eficaz dos animais frente a esta enfermidade de caráter epidêmico. O diagnóstico é o primeiro passo para o estabelecimento de medidas de controle e prevenção da doença, evitando assim sua disseminação (CHACÓN *et al.*, 2007).

Para o monitoramento do “status” sanitário do DF quanto à presença do vírus, pode ser usado o sequenciamento de DNA, pois possibilita detectar o surgimento de novas estirpes ou a disseminação das existentes para outras áreas geográficas (CHACÓN & FERREIRA, 2009).

Mais testes são necessários para constatar a presença da doença no DF. Em Bastos, São Paulo, por exemplo, pôde-se chegar à conclusão de que o causador de afecções respiratórias era o VLTI devido aos seguintes fatores: alta incidência de detecção do vírus, a observação de sinais clínicos correlatos com a infecção e os diagnósticos diferenciais com outras doenças respiratórias (CHACÓN *et al.*, 2007).

Como o método de propagação viral nas criações avícolas é incerto, os dados de manejo coletados a partir das entrevistas realizadas com os proprietários foram estudados para se chegar a uma possível determinação dos fatores de risco para a infecção, assim como adotado por Zellen *et al.* (1984).

Nos questionários foram levantados dados referentes à produção e manejo nas propriedades, não sendo possível o acompanhamento periódico da rotina rural para confirmação. É importante destacar que muitos dos produtores tinham dificuldade em relatar as informações por muitas vezes não contabilizarem, discriminarem quantidades ou organizarem os dados de sua produção, principalmente os dados que exigiam maior acuidade. Desta forma alguns dados derivaram de uma estimativa dos produtores. Mensurar a produção é uma dificuldade comum apresentada em pesquisas sobre autoconsumo, como exemplificado por Grisa *et al.* (2010).

Não foram encontradas diferenças estatísticas ou correlações entre os dados coletados e a presença de anticorpos, ainda que muitos fatores possam ter contribuído para a alta ocorrência de infecção, a disseminação viral e a sua permanência no ambiente. Sob uma análise ampla, foi possível observar que as propriedades apresentavam realidades de criação muito semelhantes, em que havia mais de uma criação animal, a alimentação das galinhas não era controlada, havia contato com aves silvestres, o acesso ao lixo era irrestrito e as galinhas doentes não eram separadas nem medicadas.

Quanto à caracterização da avicultura familiar, das 50 propriedades visitadas, 52% (26 propriedades) utilizavam as galinhas apenas como modo de subsistência, 42% (21 propriedades) tanto para venda quanto para subsistência e apenas 6% (três) para fins comerciais, representando a importância da produção de galinhas para manter a alimentação dos moradores das regiões rurais.

As quantidades de animais variaram de 15 a 150 animais por propriedade. Destes, não havia diferenciação de idade ou sexo, ou seja, todos eram criados juntos. 50% das propriedades possuíam apenas um abrigo para as aves. Quanto ao fornecimento de ração, 52% dos proprietários a ofereciam aos animais, 96% forneciam milho e, ainda, 46,94% relataram fornecer outros tipos de alimentos para complementar a dieta. 54% das propriedades recebiam água proveniente de poço, destas 33,33% com duas amostras positivas. 36% obtinham água de nascente e 2% tanto de poço quanto de nascente, o restante (8%) recebia água da Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB). 50% não usavam bebedouros convencionais para o fornecimento de água. O tipo de bebedouro não apresentou diferenças estatísticas para amostras positivas, assim como no estudo de Buchala (2008), que atribuiu este resultado à transmissão aerógena viral e não via água.

Em relação às medidas de biossegurança, nenhum resultado apontou tendências ao surgimento de amostras positivas. Já Buchala (2008) em seu trabalho pôde associar a positividade de granjas comerciais para LTI com cuidados precários com a exposição de aves a pessoas ou veículos estranhos e o contato com fômites. Zellen *et al.* (1984) sugeriram que a ocorrência de surtos tendia a ocorrer em propriedades cujos procedimentos de higiene não eram corretamente atendidos, como a troca de calçados ou roupas de pessoas que entravam em contato com as aves. A localização da entrada de ar também foi considerada e propriedades com animais anteriormente infectados com LTI seriam mais propensas a ter um surto futuro.

Quanto à aquisição de novas aves 59,18% afirmaram que eram provenientes da própria produção e 30,61% de compra, entretanto, não souberam precisar a procedência, seja

o fornecedor ou o Estado de origem. Os produtores de criações não tecnificadas também devem promover ações sanitárias para proteger o plantel, como examinar e observar se há animais doentes antes da compra, mantê-los em quarentena e vaciná-los para as doenças comuns da região. Essas práticas não são comuns nas propriedades visitadas, podendo ter sido a forma de entrada do vírus em alguma delas.

Do total de proprietários 60% não aplicavam nenhum tipo de vacina durante a vida das aves. 50% das propriedades impediam a entrada de pessoas estranhas aos abrigos das galinhas. Em relação à limpeza 72% afirmaram não utilizar nenhum produto desinfetante e 54% não controlavam roedores. O lixo era destinado à coleta semanal em 61,7% dos casos. Já a queima era praticada em 19,15% e outros destinos eram jogar o lixo em buraco ou transformá-lo em adubo.

A conservação do vírus no ambiente pode ser facilitada pela manutenção de resíduos orgânicos provenientes de aves doentes como carcaças, fezes e exsudatos. O lixo em contato com as galinhas torna-se um potencial veículo do vírus para infectar galinhas saudáveis (GAO *et. al.* 2012). Bagust & Johnson (1995) atribuíram prioridade elevada à eliminação das carcaças, além de dar importância ao controle de roedores e pássaros em locais de produção.

A destinação ecologicamente adequada de resíduos orgânicos confere um grande desafio à produção animal, ressaltado por Gao *et al.* (2012) em seu trabalho, que sugerem o uso da digestão anaeróbica para eliminação de resíduos biológicos contaminados com VLT. O processo diminuiu a infectividade viral e degradou o DNA do vírus.

A história clínica é importante para o diagnóstico da doença, por isso foi incluída no questionário. Do levantamento de LTI no DF, 86% dos proprietários observaram alguma doença, 9,09% delas ainda em curso no dia da coleta, 72% deles não instituíram nenhum tipo de tratamento. A maior parte dos proprietários (52,17%) relataram ausência de mortalidade. 55% deles observaram sinais inespecíficos de doenças respiratórias, demonstrando a dificuldade em identificar sinais típicos da presença do agente. Embora tenham observado sinais clínicos respiratórios, galinhas consideradas saudáveis apresentaram resultados positivos para o diagnóstico de anticorpos. A ausência de sinais clínicos em propriedades positivas também foi descrita por Chacón *et al.* (2007), decorrente de ter coletado as amostras na fase inicial da doença, antes de aparecer sintomatologia típica.

A presença de galinhas com sintomatologia respiratória, especialmente com secreção muco sanguinolenta, está associado a um maior risco de infecção para aves saudáveis, seja pelo contato direto ou indireto com pastagens, instalações ou utensílios

contaminados. A falta de limpeza periódica e separação de animais doentes contribui para a perpetuação do vírus, que consegue se disseminar para aves susceptíveis.

Chacón *et al.* (2007), numa análise da região de São Paulo afetada pela doença, reconheceram como características principais a ocorrência de sinais respiratórios, a diminuição na produção de ovos e o aumento da mortalidade. Todos estes parâmetros foram levantados no presente estudo, entretanto não apresentaram diferenças significativas.

Dentre outros fatores investigados, 86,36% dos proprietários observaram a presença de ectoparasitas. Cerca de 85,71% nunca administraram vermífugo aos animais.

A idade das aves não era conhecida, entretanto a maior parte das galinhas estudadas eram adultas. Chacón *et al.* (2007) verificaram que a observação de sinais clínicos foi predominante em aves adultas (93% dos casos avaliados) e somente um animal jovem, de 12 positivos, apresentou sintomas respiratórios. A doença, entretanto pode afetar animais de todas as idades (COVER, 1996). Também houve maior ocorrência em galinhas poedeiras (87,5% dos casos).

A análise estatística confrontou ainda todos os dados com os parâmetros suspeito, negativo e mortalidade, não encontrando nenhuma relação entre os dados.

Os resultados positivos confirmam a presença de anticorpos contra o VLTI no DF, entretanto, assim como exposto por Villarreal *et al.* (2004), uma vigilância epidemiológica deve ser estabelecida de maneira contínua, para determinar além da prevalência, a incidência e o impacto econômico da infecção, utilizando-se métodos diagnósticos eficazes.

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram a presença de anticorpos específicos para VLTI nas propriedades rurais que possuem criações não tecnificadas de galinhas, apresentando prevalência de 48,26%.

A tentativa de analisar as circunstâncias responsáveis pela elevada soroprevalência não foi alcançada devido à ausência de dados precisos e à dificuldade implícita à ocorrência de alta prevalência.

A pesquisa alerta para os riscos de exposição a que os indivíduos susceptíveis estão submetidos sem contudo precisar os subtipos de vírus circulantes, o que sugere novos estudos para o diagnóstico e implantação de programas de controle e profilaxia. As medidas iniciais de controle devem basear-se no distanciamento entre aves não-comerciais e comerciais por ações de biossegurança.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAGUST, T. J. Laryngotracheitis (gallid- 1) herpesvirus infection in the chicken 4. latency establishment by wild and vaccine strains of ILT virus. **Avian Pathology**, [s.l.], v. 15, n. 3, p.581-595, 29 abr. 1986. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/03079458608436317>>. Acesso em: 05 mar. 2014.
- BAGUST, T. J.; JOHNSON, M. A. Avian infectious laryngotracheitis: Virus- host interactions in relation to prospects for eradication. **Avian Pathology**, [s.l.], v. 24, p.373-391, mar. 1995. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/03079459508419079>>. Acesso em: 21 jan. 2014.
- BELTRÃO, N. *et al.* Detecção do vírus da laringotraqueíte das galinhas no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p.85-88, jun. 2004. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/79903>>. Acesso em: 20 jul. 2013.
- BLACKER, H. P. *et al.* Epidemiology of recent outbreaks of infectious laryngotracheitis in poultry in Australia. **Australian Veterinary Journal**. [s.l.], p. 89-94. 3 mar. 2011.
- BUCHALA, F. G. *et al.* Diagnóstico epidemiológico e medidas de controle adotadas pelo serviço oficial em um surto de laringotraqueíte infecciosa das aves (LTI) no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.42-42, 2011. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/view/45/31>>. Acesso em: 04 mar. 2014.
- BUCHALA, F. G. **Planejamento, implantação e administração de medidas de defesa sanitária animal para o controle da laringotraqueíte infecciosa aviária, de 2002 a 2006, na região de Bastos, Estado de São Paulo, Brasil.** 2008. 173 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária Preventiva, Departamento de Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/mvp/d/1678.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2013.
- BUIM, M. R. *et al.* Comparação entre as técnicas laboratoriais: IGDA, ELISA, PCR e histopatologia no diagnóstico de LTI em um surto de aves poedeiras. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.77-77, 2011.

- CHACÓN, J. L. V. *et al.* Survey of Infectious Laryngotracheitis Outbreak in Layer Hens and Differential Diagnosis with other Respiratory Pathogens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s.l.], v. 0, p.61-67, mar. 2007.
- CHACÓN, J. L.; FERREIRA, A. J. P. Differentiation of field isolates and vaccine strains of infectious laryngotracheitis virus by DNA sequencing. **Vaccine**. [s.l.], p. 6731-6738. 10 set. 2009.
- COVER, M. S. The early history of infectious laryngotracheitis. **Avian Diseases**. 40. 1996. p. 494-500. Disponível em: <http://www.aaap.info/assets/documents/Hist_article_1996-1.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2014.
- GAO, T. *et al.* Evaluation of the matrix effect of thermophilic anaerobic digestion on inactivation of infectious laryngotracheitis virus using real-time PCR and viral cell culture. **Bioresource Technology**. [s.l.], p. 692-696. 6 fev. 2012. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/biortech>. Acesso em: 9 jun. 2013.
- GRISA, C. *et al.* A "produção invisível" na agricultura familiar: autoconsumo. Segurança alimentar e políticas públicas de desenvolvimento rural. **Agroalimentaria**, [s.l.], v. 16, p.65-79, jul. 2010.
- GUIMARÃES, H. K. **Análise de prevalência de salmonelose em criações não tecnificadas de *Gallus gallus* no distrito federal**. 2006. 54 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV), Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- HAYLES, L. B. *et al.* Immunization of broiler chickens with a commercial infectious laryngotracheitis vaccine in the drinking water. **Can J Comp Med**. [s.l.], p. 129-134. abr. 1976. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1277535/>>. Acesso em: 18 jul. 2013.
- HIPRA. CIVTEST AVI ILT: Detection and quantification of specific antibodies against infectious laryngotracheitis virus, by indirect ELISA. 2013. Disponível em: <http://www.hipra.com/wps/portal/web/inicio/nuestrosProductos!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3gDU8dASydDRwMLpwADA09PC2cXA3MnAwtDM_3gghL9gmxHRQCRQpaC/?WCM_GLOBAL_CONTEXT=/productos_pt/hipra/secciones/nuestrosproductos/00/40258_00>. Acesso em: 22 mar. 2014.
- LEE, S. *et al.* Comparative analysis of the complete genome sequences of two Australian origin live attenuated vaccines of infectious laryngotracheitis virus. **Vaccine**. [s.l.], p. 9583-9687. 30 out. 2011. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/vaccine>. Acesso em: 21 jun. 2013.
- OIE, World Organisation For Animal Health. **Disease distribution maps**. 2014. Disponível em: <http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease_type_hidden=&disease_id_hidden=&selected_disease_name_hidden=&disease_type=0&disease_id_terrestrial=78&species_t=0&disease_id_aquatic=-999&species_a=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2013&selected_report_period=2&selected_start_month=1&date_submit=OK>. Acesso em: 05 mar. 2014.

- OIE, World Organisation For Animal Health. **Disease outbreak summary, Brazil**. 2014. Disponível em: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail>. Acesso em: 05 mar. 2014.
- OWOADE, A. A. *et al.* Seroprevalence of avian influenza virus, infectious bronchitis virus, reovirus, avian pneumovirus, infectious laryngotracheitis virus, and avian leukosis virus in Nigerian poultry. *Avian Diseases*. v. 50, 2, p. 222-227, 2006.
- SALES, T. S. *et al.* Títulos de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle em três diferentes sistemas de criação avícola na região de Feira de Santana – Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, [s.l.], v. 8, n. 4, p.386-393, dez. 2007.
- SANTOS, H. F. *et al.* Anticorpos contra vírus em galinhas de terreiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p.1932-1937, out. 2008.
- SAS Institute. **SAS statistical package for Windows v. 8.0**. SAS Institute, Cary, NC, 1999.
- SOARES, N. M. *et al.* Capacitação técnica de pesquisadores do instituto biológico para o diagnóstico laboratorial do vírus da laringotraqueíte infecciosa das galinhas (LTI). **Biológico**, São Paulo, v. 73, p.61-68, jan. 2011.
- THRUSFIELD, M. V. **Epidemiologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2004. xii, 556 p.
- VILLANUEVA, J. L. C. **Epidemiologia molecular do vírus da laringotraqueíte infecciosa isolados de surtos em poedeiras comerciais no Estado de São Paulo**. 2008. 110 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Departamento de Patologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- VILLARREAL, L. Y. B. *et al.* Detection and Molecular Characterization of Infectious Laryngotracheitis Virus in Laying Hens in Brazil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s.l.], v. 6, p.253-256, dez. 2004.
- XAVIER, D. B. *et al.* Prevalência de enterococos isolados de frangos caipiras em diferentes regiões do Distrito Federal. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, [s.l.], v. 60, p.1550-1553, 10 abr. 2008.
- ZELLEN, G. K. *et al.* Infectious Laryngotracheitis in the Niagara Peninsula: A Case Control Study. **Schering Canada Award Essay**, [s.l.], v. 25, p.75-77, jun. 1984.

ANEXO A – QUESTIONÁRIO DE INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA

Estudo de prevalência – LTI									
Data de coleta				Ordem de visita					
N ^{os} das amostras coletadas									

Identificação da propriedade		
1	Nome	
2	Reg. rural	
3	Endereço	
4	Telefone	
5	E-mail	

Investigação epidemiológica										
6 Exploração econômica										
Subsistência			Ovos			Carne			Ovos e carne	
7 Modo de criação das aves										
Soltas			Confinadas			Gaiolas			Galpões	
8		Número de animais								
9		Número de abrigos								
10		Alimentação								
11		Procedência da água								
12		Bebedouros								
13 Medidas adotadas:										
a)		Compra aves de origem conhecida?								
b)		Aplica as vacinas recomendadas?								
c)		Impede entrada de pessoas estranhas?								
d)		Entram veículos desconhecidos?								
e)		Limpa objetos de uso na propriedade?								
f)		Depois da limpeza, aplica desinfetantes?								
g)		Controla roedores?								
h)		Descarta resíduo e lixo?								
14 Já houve doença?				Sim		Não		Quando		
Qual?										
15 Mortalidade quando há doença										
16 Já houve sinais de doença respiratória?				Sim		Não		Quando		
17 Data da suspeita de uma “doença respiratória” atípica										
18 Primeiros sinais que as aves apresentaram										
a)		Diminuição do apetite (menor consumo de ração)								
b)		Queda da postura								
c)		Mortalidade sem sinais aparentes de doença								
d)		Ave sentada e com bico aberto (dificuldade respiratória)								
e)		Secreção oronasal mucosa e sem sangue								
f)		Secreção oronasal mucosa e com sangue								
g)		Conjuntivite								
h)		Tosse								

ANEXO B – TABELA DE PROPRIEDADES VISITADAS

Tabela B.1 - Propriedades visitadas nas regiões rurais do DF, sua classificação, número de amostras positivas, suspeitas, negativas e total de amostras analisadas

Região	Propriedade	Classificação	Positivo	Suspeito	Negativo	Total
Pipiripau	1	Positiva	1	3	0	4
	2	Positiva	1	2	2	5
	3	Positiva	3	2	0	5
	4	Positiva	4	1	0	5
	5	Positiva	2	0	2	4
São Sebastião	6	Positiva	2	0	2	4
	7	Positiva	4	0	1	5
	8	Positiva	3	2	0	5
	9	Suspeita	0	2	2	4
	10	Positiva	2	1	2	5
Tabatinga	11	Positiva	3	2	0	5
	12	Positiva	5	0	0	5
	13	Positiva	2	1	1	4
	14	Positiva	2	3	0	5
	15	Positiva	1	0	3	4
Jardim	16	Suspeita	0	3	2	5
	17	Positiva	3	1	0	4
	18	Suspeita	0	1	3	4
	19	Positiva	2	3	0	5
	20	Positiva	5	0	0	5
Taquara	21	Suspeita	0	2	2	4
	22	Positiva	3	2	0	5
	23	Negativa	0	0	5	5
	24	Positiva	2	1	1	4
	25	Negativa	0	0	5	5
Alexandre de Gusmão	26	Suspeita	0	1	4	5
	27	Positiva	2	1	1	4
	28	Positiva	2	0	2	4
	29	Positiva	5	0	0	5
	30	Positiva	2	2	1	5
Gama	31	Positiva	2	0	2	4
	32	Positiva	4	0	0	4
	33	Positiva	3	1	1	5
	34	Positiva	3	2	0	5
	35	Positiva	5	0	0	5
Sobradinho	36	Suspeita	0	2	3	5
	37	Positiva	2	2	0	4
	38	Positiva	3	2	0	5
	39	Positiva	1	0	3	4
	40	Suspeita	0	2	3	5

	41	Positiva	3	0	1	4
	42	Positiva	1	1	1	3
PAD-DF	43	Positiva	2	2	1	5
	44	Positiva	2	2	1	5
	45	Positiva	3	0	2	5
	46	Positiva	2	0	3	5
	47	Positiva	5	0	0	5
Rio Preto	48	Positiva	2	2	1	5
	49	Positiva	3	1	1	5
	50	Positiva	4	0	0	4

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho verificou a presença de anticorpos contra o VLTII em plantéis de avicultura familiar no DF. A prevalência foi de 48,26%. Quanto à investigação epidemiológica, foram levantados dados insuficientes para precisar a origem do vírus e como tem se propagado no DF. É necessária a busca pelo tipo de vírus circulante para a sua caracterização de virulência e instituição de programas de controle e profilaxia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAIR, B. M. *et al.* Comparison of serological tests for detection of antibodies to infectious laryngotracheitis virus. **Avian Pathology**, [s.l.], v. 14, n. 4, p.461-469, 23 maio 1985. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/03079458508436249>>. Acesso em: 04 mar. 2014.
- ARAÚJO, L. M. G. *et al.* Ocorrência de laringotraqueíte infecciosa no Estado do Rio de Janeiro, comunicado técnico. Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro – PESAGRO, 1/3 (b), setembro de 1982.
- BACK, A.; LEÃO, J. A. Laringotraqueíte. In: Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 4, 2003, Chapecó (SC). **Anais do IV Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 08, 09 e 10 de abril de 2003**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2003. p. 50 - 56. Disponível em: <file:///Users/Barbara/Downloads/publicacao_u8e93q2t.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2014.
- BARBOSA, Firmino José Vieira *et al.* **Sistema Alternativo de Criação de Galinhas Caipiras**. 2007. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/SistemaAlternativoCriacaoGalinhaCaipira/index.htm>>. Acesso em: 09 fev. 2014.
- BAUER, B. *et al.* Comparison of commercial ELISA test kits from Australia and the USA with the serum neutralization test in cell cultures for the detection of antibodies to the infectious laryngotracheitis virus of chickens. **Avian Pathology**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.65-72, 04 jun. 1998. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03079459995064#.Uxc6dP20KT8>>. Acesso em: 27 fev. 2014.
- BEACH, J. R. A bacteriological study of infectious laryngotracheitis of chickens. **J Exp Med.** [s.l.], p. 801-808. 30 nov. 1931. Disponível em: <<http://jem.rupress.org/content/54/6/801.long>>. Acesso em: 18 jul. 2013.
- BELTRÃO, N. *et al.* Detecção do vírus da laringotraqueíte das galinhas no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p.85-88, jun. 2004. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/79903>>. Acesso em: 20 jul. 2013.

- BELTRAO, N. *et al.* Laryngotracheitis: reproducibility of the disease and comparison of diagnostic methods. **Braz. J. Microbiol.** São Paulo , v. 34, supl. 1, Nov. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822003000500024&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 19 fev. 2014.
- BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. Doenças das aves. Campinas: FAPESP: FACTA, 2000. 800 p.
- BORDIN, É. L. Patologia do Sistema respiratório. In: Tratado de Ornitopatologia Sistêmica. São Paulo: Nobel, 1981. p. 13.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Legislação : programas nacionais de saúde animal do Brasil / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Departamento de Saúde Animal. – Brasília : MAPA/SDA/DSA, 2009. p.171-241.
- BUCHALA, F. G. Planejamento, implantação e administração de medidas de defesa sanitária animal para o controle da laringotraqueíte infecciosa aviária, de 2002 a 2006, na Região De Bastos, Estado De São Paulo, Brasil. 2008. 173 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária Preventiva, Departamento de Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/mvp/d/1678.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2013.
- BURNSIDE, J.; MORGAN, R. Emerging roles of chicken and viral microRNAs in avian disease. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL GENOMICS FOR ANIMAL HEALTH, 1., 2010, Paris, France. **Proceedings.** BMC, 2011. v. 5, p. 1 - 5. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1753-6561/5/S4/S2>>. Acesso em: 18 jul. 2013.
- CHACÓN, J. L. V. *et al.* Survey of Infectious Laryngotracheitis Outbreak in Layer Hens and Differential Diagnosis with other Respiratory Pathogens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s.l.], v. 0, p.61-67, mar. 2007.
- CHACÓN, J. L.; FERREIRA, A. J. P. Differentiation of field isolates and vaccine strains of infectious laryngotracheitis virus by DNA sequencing. **Vaccine.** [s.l.], p. 6731-6738. 10 set. 2009.
- CHACÓN, J. L.; FERREIRA, A. J. P. Differentiation of field isolates and vaccine strains of infectious laryngotracheitis virus by DNA sequencing. **Vaccine.** [s.l.], p. 6731-6738. 10 set. 2009.
- COVER, M. S. The early history of infectious laryngotracheitis. **Avian Diseases.** 40. 1996. p. 494-500. Disponível em: <http://www.aaap.info/assets/documents/Hist_article_1996-1.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2014.
- CRUICKSHANK, J. G.; BERRY, D. M.; HAY, B. The fine structure of infectious laryngotracheitis virus. **Virology.** [s.l.], p. 376-378. jun. 1963.

- DAVIDSON, I. Diverse Uses of Feathers with Emphasis on Diagnosis of Avian Viral Infections and Vaccine Virus Monitoring. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s.l.], v. 11, p.139-148, set. 2009.
- DEVLIN, Joanne M. et al. Horizontal transmission dynamics of a glycoprotein G deficient candidate vaccine strain of infectious laryngotracheitis virus and the effect of vaccination on transmission of virulent virus. **Vaccine**. [s.l.], p. 5699-5704. 1 jun. 2011. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/vaccine>. Acesso em: 20 jul. 2013.
- EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural/EMATER-DF. **Principais atividades agropecuárias do Distrito Federal**. Ano: 2010.
- FERREIRA, D. A. et al. **Criação de galinha caipira**: EMATER - MG. 2012. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/doc/intranet/upload/MATERIAL_TECNICO/galinha_caipira.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2014.
- FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Herpesviridae. In: FLORES, E. F. (Org.). **Virologia Veterinária**. Santa Maria : Ed. da UFSM, 2007. p. 333.
- FUCHS, W. et al. In Vitro and In Vivo Relevance of Infectious Laryngotracheitis Virus gJ Proteins That Are Expressed from Spliced and Nonspliced mRNAs. **Journal Of Virology**. [s.l.], p. 705-716. ago. 2004.
- GRANZOW, H. et al. Egress of Alphaherpesviruses: Comparative Ultrastructural Study. **Journal Of Virology**. [s.l.], p. 3675-3684. abr. 2001.
- GUO, P. et al. Assembly pathway of avian infectious laryngotracheitis virus. **Am J Vet Res**. [s.l.], p. 2031-2039. dez. 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8116934>>. Acesso em: 19 fev. 2013.
- GUY, J. S.; BAGUST, T. J. Laryngotracheitis. In: SAIF, Y.M.; BARNES, H.J.; FADLY, A.M.; CLISSON, J.R.; McDOUGALD, L.R.; SWAYNE, D.E.(Eds.). **Diseases of Poultry**. 11 ed., Ames: Iowa State University Press, 2003. p.121-134.
- GUY, J.S.; BARNES, H.J.; SMITH, L. Increased virulence of modified-live infectious laryngotracheitis vaccine virus following bird-to-bird passage. **Avian Dis** 1991, 35(2):348-355.
- HAYLES, L. B. et al. Immunization of broiler chickens with a commercial infectious laryngotracheitis vaccine in the drinking water. **Can J Comp Med**. [s.l.], p. 129-134. abr. 1976. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1277535/>>. Acesso em: 18 jul. 2013.
- HIDALGO, H. Infectious Laryngotracheitis: A Review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.5, p.157-168, 2003.
- HIGUERA, S; LECHUGA, M; MERCADO, G. **Estudo para a avaliação da proteção gerada a diferentes idades com uma vacina vetorizada contra o vírus da laringotraqueíte infecciosa em galinhas criadas em granja e desafiadas em laboratório**. 2011. XXII Latin American Poultry Congress 2011. Disponível em:

<<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/saude/artigos/estudo-avaliacao-protecao-gerada-t761/165-p0.htm>>. Acesso em: 20 abr. 2014.

- HIPOLITO, O. *et al.* Isolamento e identificação do vírus da laringotraqueite infecciosa das galinhas no Brasil. In: **Congresso Brasileiro De Microbiologia**, 1974, Rio de Janeiro, Anais, 1974. p.16.
- ICTV. **ICTV Taxonomy History for Gallid herpesvirus 1**. Disponível em: <http://ictvonline.org/taxonomyHistory.asp?taxnode_id=20130241&taxa_name=Gallid herpesvirus 1>. Acesso em: 30 mar. 2014.
- IDE, P. R. The sensitivity of some avian viruses to formaldehyde fumigation. **Can J Comp Med.** [s.l.], p. 211-216. abr. 1979.
- ITO, N. M. K. *et al.* LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA: SITUAÇÃO BRASILEIRA. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 5., 2004, Chapecó. **Anais...** . Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2004. p. 107 - 118.
- JONES, R. C. *et al.* Isolation of infectious laryngotracheitis virus from proximal femora of lame broiler chickens. **Res Vet Sci**, [s.l.], v. 55, n. 3, p.377-378, nov. 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8284504>>. Acesso em: 27 jan. 2014.
- KALETA, E. F.; DOCHERTY, D. E. Avian Herpesviruses. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. **Infectious Diseases of Wild Birds**. Blackwell Publishing, 2007. p. 78.
- KIRKPATRICK, N. C. *et al.* Differentiation of infectious laryngotracheitis virus isolates by restriction fragment length polymorphic analyses of polymerase chain reaction products amplified from multiple genes. **Avian Diseases**, v.50, p.28-34, 2006.
- LEE, S. *et al.* Attenuated Vaccines Can Recombine to Form Virulent Field Viruses. **Brevia**. [s.l.], p. 188-188. 13 jul. 2012. Disponível em: <www.sciencemag.org>. Acesso em: 20 jul. 2013.
- LEE, S. W. *et al.* First complete genome sequence of infectious laryngotracheitis virus. **Bmc Genomics**. [s.l.], p. 197-202. 19 abr. 2011. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/197>>. Acesso em: 17 jul. 2013.
- MARIETTO GONÇALVES, G. A.; LIMA, E. T.; ANDREATTI FILHO, R. L. Doenças respiratórias em aves atendidas no Laboratório de Ornitopatologia da FMVZ-UNESP/Botucatu -SP, Brasil , nos anos de 2005 a 2006. **Archives of Veterinary Science**, [s.l.], v. 13, p.40-45, 25 mar. 2008.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa Nº 50, de 24 de Setembro de 2013**. Brasília, DF: D.O.U., 25 set. 2013. Seção 1.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL. Listed diseases, infections and infestations in force in 2014. 2014. Disponível em: <<http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2014/>>. Acesso em: 18 fev. 2014.

- OU, S. C.; GIAMBRONE, J. J. Infectious laryngotracheitis virus in chickens. **World J Virol.** [s.l.], p. 142-149. 12 out. 2012. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/2220-3249/full/v1/i5/142.htm>>. Acesso em: 04 fev. 2014.
- PORTZ, C. *et al.* Comparision of different cell cultures for replication of infectious laryngotracheitis virus from chickens. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s.l.], v. 36, n. 2, p.101-105, jan. 2008.
- PREIS, I. S. *et al.* Outbreak of infectious laryngotracheitis in large multi-age egg layer chicken flocks in Minas Gerais, Brazil. **Pesq. Vet. Bras.** Rio de Janeiro, v. 33, n. 5, May 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2013000500007&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: access 17 jul. 2013.
- SANDER, J. E., THAYER, S. G. Evaluation of ELISA titers to infectious laryngotracheitis. **Avian Diseases**, 41 (2): 429-432, 1997.
- SANTOS, H. F. *et al.* Anticorpos contra vírus em galinhas de terreiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, Oct. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000700020&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 11 fev.. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000700020>).
- SHEHATA, A. A. *et al.* Chicken embryo origin-like strains are responsible for Infectious laryngotracheitis virus outbreaks in Egyptian cross-bred broiler chickens. **Springer Science**. Nova Yorque, p. 423-430. 4 jan. 2013. Disponível em: <www.springer.com/>. Acesso em: 1 jun. 2013.
- SILVA, E. C.; CYTRANGULO, E. G. **Informações agropecuárias do Distrito Federal - 2012.** 2013. Disponível em: <http://www.emater.df.gov.br/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=72&Itemid=55>. Acesso em: 28 fev. 2014.
- SILVA, G. M. M.; RISTOW, L. E. Detecção de anticorpos contra laringotraqueíte infecciosa das aves no Estado de Minas Gerais. In: XX CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 2007, Porto Alegre, Resumos., 2007. p. 110-112.
- SOARES, N. M. *et al.* Capacitação técnica de pesquisadores do instituto biológico para o diagnóstico laboratorial do vírus da laringotraqueíte infecciosa das galinhas (LTI). **Biológico**, São Paulo, v. 73, p.61-68, jan. 2011.
- TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P. **Importância do monitoramento sorológico na avicultura.** 2011. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=162>. Acesso em: 01 mar. 2014.
- THUREEN, D. R.; KEELER JR, C. L. Psittacid Herpesvirus 1 and Infectious Laryngotracheitis Virus: Comparative Genome Sequence Analysis of Two Avian Alpha herpesviruses. **Journal of virology.** [s.l.], p. 7863-7872. ago. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16873243>>. Acesso em: 28 jan. 2014.

- UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. Relatório Anual 2013. 2013. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/732e67e684103de4a2117dda9ddd280a.pdf>>. Acesso em: 08 fev. 2014.
- VARGAS, R. E. S. 1995. **Laringotraqueite infecciosa das aves**: Estudo epidemiológico em plantéis avícolas no Estado do Rio Grande do Sul. 2000. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.
- VIEIRA, J. S. M. **CRIAÇÃO DE GALINHAS CAIPIRAS EM SISTEMA ORGÂNICO**. 2012. Disponível em: <http://www.espacodoagricultor.rj.gov.br/pdf/criacoes/MANEJO_GALINHAS_CAIPIRAS_SISTEMAS_ORGANICOS.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2014.
- VILLARREAL, L. Y. B. *et al.* Detection and Molecular Characterization of Infectious Laryngotracheitis Virus in Laying Hens in Brazil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s.l.], v. 6, p.253-256, dez. 2004.
- WILD, P. *et al.* A genomic map of infectious laryngotracheitis virus and the sequence and organization of genes present in the unique short and flanking regions. *Virus genes*, v.12, p.107-116, 1996.
- YORK, J. J.; FAHEY, K.J. Diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibody ELISA. *Avian Pathology*, v.17, p.173-182, 1988.
- ZHAO, Y. *et al.* Detection of Infectious Laryngotracheitis Virus by Real- Time PCR in Naturally and Experimentally Infected Chickens. **Plos One**. [s.l.], p. 11-10. 28 jun. 2013. Disponível em: <<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0067598>>. Acesso em: 27 jan. 2014.