

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM HIGIENE VETERINÁRIA E
PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE ORIGEM
ANIMAL**

FERNANDA MARTINEZ XAVIER ALVES

**CELULITE ASSOCIADA ÀS LESÕES NA BOLSA DE
FABRÍCIO DE FRANGOS DE CORTE SOB INSPEÇÃO
SANITÁRIA**

**UNIVERSIDADE
FEDERAL
FLUMINENSE**

NITERÓI/RJ

2005

FERNANDA MARTINEZ XAVIER ALVES

**CELULITE ASSOCIADA ÀS LESÕES NA BOLSA DE FABRÍCIO DE
FRANGOS DE CORTE SOB INSPEÇÃO SANITÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária - Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

ORIENTADOR: PROF. DR. ROGERIO TORTELLY

CO-ORIENTADOR: PROF. DRA. VIRGINIA LÉO DE ALMEIDA PEREIRA

Niterói/ RJ

2005

FERNANDA MARTINEZ XAVIER ALVES

**CELULITE ASSOCIADA ÀS LESÕES NA BOLSA DE FABRÍCIO DE
FRANGOS DE CORTE SOB INSPEÇÃO SANITÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária - Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovado em 31 de agosto de 2005

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rogerio Tortelly
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dra. Virginia Léo de Almeida Pereira
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho
Universidade Estadual do Norte Fluminense

Niterói/RJ
2005

Dedico este trabalho a minha família e a todos que me ajudaram na realização do mesmo. Principalmente a minha mãe, minha avó e ao Davi pelo incentivo, paciência e amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr Rogério Tortelly pela amizade, voto de confiança, pela paciência, orientação, estímulo concedidos nesta jornada para realização deste trabalho.

À prof. Dra. Virginia Léo de Almeida Pereira pela paciência, dedicação, ajuda e incentivo em todos os momentos.

Ao Dr. Antonio Marco Pastore Guimarães pela paciência, pelo fornecimento das amostras, ajuda e empenho na coleta das mesmas.

Ao Dr. Alex William Hofmeister e aos agentes de inspeção Federal pela colaboração na obtenção das amostras.

Ao Drausio Ferreira Paiva, secretario da Coordenação de Pós-graduação, pela ajuda prestada sempre que necessária.

Ao prof. Elmiro Rosendo do Nascimento pela ajuda na realização da parte estatística deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Sergio Borges Mano, coordenador do curso de pós-graduação pela ajuda sempre que solicitada.

À profa. Dayse Lima da Costa Abreu pela ajuda em todos os momentos.

À minha amiga Patrícia Riddell Millar por sua amizade, auxilio, incentivo e amizade.

As minhas amigas Joana Fernandes, Raquel Salgado, Thais Okamoto por sua amizade.

Aos amigos da pós-graduação pela torcida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo auxílio financeiro concedido.

SUMÁRIO

RESUMO, p. 11

ABSTRACT, p. 12

1 INTRODUÇÃO, p. 13

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA, p. 16

2.1 SITUAÇÃO DA AVICULTURA NO BRASIL, p. 16

2.2 IMUNODEPRESSÃO, p. 17

2.2.1 Bolsa de Fabrício, p. 18

2.2.2 Doença infecciosa da Bolsa de Fabrício, p. 18

2.2.2.1 *Imunidade, p. 20*

2.2.2.2 *Diagnóstico, p. 22*

2.2.2.2.1 Elisa, p. 22

2.2.2.2.2 PCR, p. 22

2.2.4.3 *Anatomia patológica, p. 23*

2.3 CELULITE, p. 27

2.3.1 Tecido epitelial, p. 27

2.3.2 Lesões cutâneas, p. 28

2.3.3 Etiologia da celulite, p. 28

2.3.4 Manejo das aves, p. 30

2.3.5 Diagnóstico Anatomopatológico, p. 30

3 MATERIAL E MÉTODO, p. 33

3.1 ORIGEM DO MATERIAL, p. 33

3.2 AS AMOSTRAS, p. 33

3.3 MEDIÇÃO DA BOLSA DE FABRÍCIO, p. 34

3.4 PROCESSAMENTO DOS TECIDOS PARA HISTOPATOLOGIA, p. 34

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA, p. 35

4 RESULTADOS, p. 36

4.1 CELULITE, p. 36

4.1.1 Exame macroscópico, p. 37

4.1.2 Exame histopatológico, p. 39

4.2 BOLSA DE FABRÍCIO, p. 39

4.2.1 Exame macroscópico e Medição da bolsa de Fabrício, p. 39

4.2.2 Exame histopatológico, p. 41

5 DISCUSSÃO, p. 52

6 CONCLUSÃO, p. 55

7 OBRAS CITADAS, p. 56

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Frango. Celulite. Pele espessada de coloração amarelada (seta), p. 36

FIGURA 2. Frango. Celulite. Inúmeras placas fibrinosas (setas), p.37

FIGURA 3. Frango. Celulite. Placa de característica fibrinosa rica em restos celulares (seta), envolta por macrófagos e células gigantes multinucleadas (cabeça de seta). H.E. obj. 20X, p. 38

FIGURA 4. Frango. Celulite. Edema e restos celulares no tecido subcutâneo.H.E. obj. 10X, p. 38

- FIGURA 5. Frango. Celulite. Múltiplos nódulos (seta) de constituição mononuclear na musculatura regional. H.E. obj. 10X, p. 39

•
FIGURA 6. Bursômetro com bolsas de tamanhos 3 e 4, p. 40

FIGURA 7. Frango. Bolsa de Fabrício. Numerosos cistos no epitélio de revestimento da prega (seta). H.E. obj. 10X, p. 41

FIGURA 8. Frango. Bolsa de Fabrício. Folículo apresentando fluido acidófilo (seta) envolto por acentuada fibrose e elementos celulares inflamatórios (cabeça de seta). H.E. obj. 20X, p. 42

FIGURA 9. Frango. Bolsa de Fabrício. Infiltrado de heterófilo no interstício (seta) espessado por fibrose (cabeça de seta). Perda da arquitetura do órgão.H.E obj. 20X, p. 42

FIGURA 10. Frango. Bolsa de Fabrício. Necrose dos elementos linfóides de múltiplos folículos (seta). H.E. obj. 10X, p. 43

FIGURA 11. Frango. Bolsa de Fabrício. Rarefação dos elementos linfóides dos folículos (seta) envolvidos por fibrose (cabeça de seta). H. E. obj. 20X, p. 43

FIGURA 12. Frango. Bolsa de Fabrício. Presença de múltiplos cistos, de variados diâmetros, intrafoliculares (seta). H.E. obj. 10X, p. 44

FIGURA 13. Frango. Bolsa de Fabrício. Destruição de folículos por cistos solitários que mostram substância acidófila (seta). H.E. obj. 10X, p. 44

FIGURA 14. Frango. Bolsa de Fabrício. Aspecto cirrótico do órgão. Nota-se acentuada fibrose (seta), atrofia de folículos (cabeça de seta) e múltiplos cistos foliculares (C). H.E. obj. 4X, p.45

FIGURA 15. Frango. Bolsa de Fabrício. Detalhe da figura anterior. H.E. obj. 10X, p. 45

Figura 16. Frango. Bolsa de Fabrício. Cistos foliculares em folículos (seta) envolvidos por discreto edema e proliferação de tecido conjuntivo (cabeça de seta). H.E. obj.10X, p. 46

LISTA DE QUADROS E TABELAS

TABELA 1. Diâmetro da bolsa de Fabrício em frangos de corte portadores de celulite (caso) e sem a enfermidade (controle), p. 40

QUADRO 1 – Análise histopatológica do grupo caso, p. 46

QUADRO 2. Análise histopatológica do grupo controle, p. 48

TABELA 2. Escore de lesões na bolsa de Fabrício em frangos de corte portadores de celulite (caso) e sem a enfermidade (controle), p. 49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Anticorpos
ABEF	Associação Brasileira dos Exportadores de Frango
AcM	Anticorpos Maternos
ALV	Vírus da Leucose Linfóide
CIAV	Vírus da Anemia das Galinhas
DIB	Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício
ELISA	“Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”
EUA	Estados Unidos da América
FAO	“Food and Agriculture Organization”
HACCP	“Hazard Analysis and Critical Control Point”
H.E	Hematoxilina- eosina
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
MDV	Vírus da doença de Marek
obj	Objetiva
PCR	“Polymerase Chain Reaction”
RT/PCR	“Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction”
SIF	Serviço de Inspeção Federal
UBA	União Brasileira de Avicultura
USDA	“United States Department of Agriculture”
VDIB	Vírus da Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício
vvVDIBs	Cepas Muito Virulentas do Vírus da Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício

RESUMO

A imunodepressão em aves causa prejuízos à avicultura industrial, por possibilitar a instalação de enfermidades, como dermatites e celulite, entre outras, e interferir nos programas vacinais. A histofisiologia da bolsa de Fabrício comprova que o órgão exerce função imunológica, em razão de sua constituição rica em linfócitos B. Na presente pesquisa foi realizado um estudo epidemiológico de caso controle, onde foram avaliados 128 frangos de corte, entre 40 e 48 dias de idade, sob inspeção sanitária, vacinados contra a Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício (DIB) no 14º dia de vida (via água de bebida). O grupo caso foi constituído por 68 aves portadoras de celulite e o grupo controle, por 60 aves sem a doença. As bolsas, ao serem coletadas, foram medidas em bursômetro e registradas de acordo com sua escala. Após o exame macroscópico foram coletados fragmentos de pele, lesada e integra, e de bolsa de Fabrício, fixados em formol a 10%, para a realização da histopatologia, após o processamento pelas técnicas habituais, para inclusão em parafina, e coloração em H.E, no serviço de Anatomia Patológica Professor Jéfferson Andrade dos Santos (UFF). Foi criado um escore para análise histológica das lesões com os seguintes critérios: escore 0 – sem lesão; escore 1 – discretas hiperplasia e rarefação linfóide de folículos; 2 – edema, infiltrado inflamatório, necrose de folículos, rarefação linfóide severa e atrofia discreta de folículos; escore 3 – presença de cistos foliculares e epiteliais, atrofia severa de folículos e fibrose. A análise estatística foi realizada pelos testes de Qui-quadrado Kruskal-Wallis e Regressão Linear. A análise do bursômetro mostrou que 54 bolsas corresponderam ao grau 3; 48, ao grau 4 e seis ao grau 5. Macroscopicamente não foram observadas alterações. Microscopicamente foram registrados uma bolsa com escore 0; três, com escore 1; 25, com escore 2; e 99, com escore 3. Houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos caso e controle em relação ao diâmetro e aos escores de lesão de bolsa de Fabrício obtidos. A presença de celulite no grupo caso foi influenciada pelo diâmetro menor da bolsa de Fabrício e favorecida pela presença de lesões mais graves (escore 3) na bolsa de Fabrício, em maior proporção, nas aves desse grupo. Lesões amareladas em placas no subcutâneo de frangos de corte devem ser consideradas como celulite, e critério para correção do julgamento da carcaça. A presença de graves lesões na bolsa de Fabrício foi associada às lesões provocadas pelo vírus da doença infecciosa da bolsa de Fabrício descritas na literatura.

Palavras-chave: frango de corte, bolsa de Fabrício, imunodepressão, celulite, histopatologia.

ABSTRACT

The immunodepression in birds cause damages to the industrial poultry because it makes possible the spread of other diseases, such as dermatitis and cellulitis, among others, despite the fact that it also affect in the vaccine programs. The histophysiology of the bursa of Fabricius able to prove that the organ has an immunological role, due to its constitution, abundant in lymphocyt B. This work is an epidemiological study of case control, evaluating 128 broiler chickens, between 40 and 48 days old, under sanitary inspection, vaccinated against the DIB in the 14th day of age (through drinking water). The case group consists of 68 broiler chickens with celulitis and the control group consists of 60 healthy animals. After the macroscopic examination were collected skin fragments, both injured and not injured, as well as bursal fragments, fixed with 10% phormol, in order to finish the histopathology, and also for the and processing by the established techniques, as well as included in paraffin and stained with hematoxilin and eosin, at the Pathological Anatomy Service *Professor Jéfferson Andrade dos Santos* (UFF). The bursals, when collected, were measured in bursometer and registered in accordance with its scale. A score has been created for the histopathological analysis of the injuries with the following criteria: score 0 - without injury; score 1 - discrete hyperplasia and lymphoid follicles rarefaction; score 2 - edema, inflammatory infiltrate, follicle necrosis, severe lymphoid rarefaction and follicle discrete atrophy; 3 - presence of epithelial and follicle cysts, severe follicle atrophy and fibrosis. The statistical analysis was made with the Qui-square Kruskal-Wallys tests and Linear Regression. The bursometer analysis has demonstrated that 54 bursals could be classified as degree 3; 48 as degree 4 and; 6 as degree 5. Alterations have not been observed macroscopically. Through microscopical analysis we registered 1 bursal with score 0; 3 with score 1; 25 with score 2; and 99 with score 3. There was statistical difference ($p \leq 0,05$) between the case and control groups in relation to the diameter and to the scores of bursal injuries that we had obtained. The presence of cellulitis in the case group was influenced by the shorter diameter of the bursal and favored by the presence of more serious injuries (score 3) in the bursal, in bigger ratio, in the birds of this group. Yellowish injuries under the skin in plaque in the subcutaneous of broiler chickens must be considered as cellulitis and a criterion for correction of the carcass condemnation. The presence of serious injuries in the bursal was associated with the microscopical injuries provoked by the IBDV described in literature.

Key words: broiler, bursa of Fabricius, immunodepresion, cellulitis, histopathology

1 INTRODUÇÃO

A avicultura, ano após ano, consolida-se como uma das mais importantes fontes de proteína animal para a população mundial. De acordo com números do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a produção mundial de frangos cresceu sistematicamente nos últimos 30 anos, passando de 7,47 milhões de toneladas em 1970 para 40 milhões de toneladas no final deste século (SANTOS FILHO, 2000).

No Brasil o crescimento da produção, do consumo, e das exportações são desafios continuamente alcançados. A produção brasileira apresentou nos últimos 30 anos um crescimento anual médio de 10,64% (SANTOS FILHO, 2000).

O ano de 2004 foi excelente para a avicultura brasileira pois a disponibilidade e preço dos grãos foram satisfatórios e a qualidade sanitária tanto das aves quanto dos produtos foi importante. O Brasil, alavancado pelo aumento das exportações que atenderam 132 diferentes destinos, experimentou um crescimento de produção de carne de frango acima de 8%, com 25% de incremento nos embarques internacionais, representando receitas, acima de 2,5 bilhões de dólares (UBA, 2004).

A maior parte da carne de frango no Brasil é produzida por grandes empresas integradas ou cooperativas que adotam práticas de manejo e controles rígidos de produção. O abate nestas indústrias é realizado em frigoríficos altamente tecnificados, sendo cada vez maior o grau de automação das operações de abate e processamento. As práticas de higiene adotadas na manipulação da carne são rígidas. Boa parte das indústrias adota programas de redução de riscos e de controle de pontos críticos HACCP, assim como outros procedimentos sugeridos pelo Codex Alimentarius, órgão da FAO encarregado

de elaborar normas para a produção de alimentos. No Brasil, mais de 70% das aves abatidas são inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF). Além de todo o rigor na produção, como a carne de aves não é consumida crua, o risco de intoxicação alimentar devido à contaminação bacteriana é praticamente zero, uma vez que o calor do cozimento, da fritura ou do processo de assar elimina a maior parte das bactérias eventualmente existentes (MENDES, 2002)

Contudo, as doenças imunossupressoras como a doença infecciosa da bolsa de Fabrício (DIB), que acomete principalmente aves jovens, e que leva a quadros de imunodepressão, vem preocupando os sanitaristas. A imunossupressão causa prejuízos econômicos, relacionados com o alto índice de mortalidade das aves, aumento no gasto de medicamentos, queda na produtividade dos lotes e aumento da condenação no abate por favorecer o aparecimento de outras enfermidades (LEFFER, 2004).

Em relação aos prejuízos econômicos que a DIB pode ocasionar, temos que levar em consideração dois itens. O primeiro, se refere a algumas cepas virais que podem causar mortalidade de 20 a 40% em galinhas de três semanas ou mais velhas, e o segundo, o mais importante, é a imunossupressão severa e prolongada de galinhas infectadas no início da vida. As seqüelas têm sido associadas com imunossupressão induzidas pelo vírus, que incluem dermatite gangrenosa, hepatite por corpúsculo de inclusão (síndrome anêmica), falha na reposta às vacinações e infecções por *E. coli* podendo levar a lesões de pele como a celulite (LUKERT, 1993a).

Dentre as inúmeras doenças que provocam lesões na pele dos frangos de corte, podemos destacar a celulite como uma das mais importantes, principalmente por causar elevados prejuízos em função da condenação parcial ou total das carcaças em abatedouros do mundo todo (FALLAVENA, 2005a).

O controle de uma doença se consegue pelo conhecimento dos mecanismos de propagação da mesma em uma população, e redução dos riscos de transmissão.

Torna-se imprescindível a aplicação criteriosa de medidas de biossegurança, juntamente com a cepa vacinal bem escolhida e o programa de vacinação determinado com precisão. A técnica de vacinação deve ser aplicada de maneira racional e rigorosa (TREVIZOLI, 2001).

Diante deste contexto é cada vez mais importante combater as enfermidades imunossupressoras que atingem as aves, minimizando os prejuízos da indústria

avícola. O número de condenações de frangos por celulite vem aumentando nos últimos anos gerando grandes perdas econômicas. Este trabalho foi realizado com o intuito de avaliar as lesões da bolsa de Fabrício e sua correspondência com a ocorrência da celulite em frangos de corte.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SITUAÇÃO DA AVICULTURA NO BRASIL

O Brasil vem ocupando lugar de destaque no cenário avícola mundial, setor altamente competitivo onde o custo de produção tem sido determinante para o crescimento das empresas. Este fato está levando os profissionais do setor avícola a manter um alto nível sanitário de seus plantéis para poder usufruir a máxima performance das aves, melhorando a rentabilidade do produto final (LEFFER, 2004).

As exportações brasileiras de frango em 2005 cresceram 28,10% nos quatro primeiros meses do ano, totalizando US\$ 945,5 milhões segundo, a associação Brasileira dos Exportadores de Frango (ABEF). O resultado foi o melhor do ano: US\$ 259,8 milhões, valor de 54,38% superior ao do mesmo período de 2004 (ABEF, 2004).

O Brasil que é um grande exportador de carne de frango, tem a necessidade da implementação de medidas de biossegurança no setor produtivo. A biossegurança consiste no conjunto de medidas aplicadas em todos os segmentos da criação das aves, objetivando principalmente a diminuição do risco de infecções e aumento do controle sanitário dos plantéis, minimizar a contaminação do ecossistema e resguardar a saúde do consumidor do produto. Os cuidados com a saúde das aves começam ainda na escolha do local para a construção do aviário e das linhagens que serão introduzidas na granja (JAENISCH, 2005).

Problemas sanitários graves podem comprometer a exportação de produtos avícolas, logo estas medidas devem ser adotadas tanto visando a

obtenção de melhores resultados de produção quanto devido ao comprometimento do setor com a produção regional e nacional (JAENISCH, 2005).

A qualidade da carne de frango depende de muitos fatores, dentre estes podemos citar o efeito das doenças infecciosas que podem afetar esta qualidade em diferentes graus. A aparência, higiene e sabor são os principais fatores observados pelos consumidores na hora de adquirir a carne de frango e seus produtos (SILVA, 2004).

Apesar de todos os avanços tecnológicos alcançados e dos cuidados com o aspecto sanitário, problemas, como imunodepressão, continuam causando prejuízos a indústria avícola brasileira por favorecer o aparecimento de lesões que determinam a condenação das aves tais como: lesões cutâneas, caquexia e outras.

2.2 IMUNODEPRESSÃO

O sistema imune das aves é composto de: tecido linfóide primário - bolsa de Fabrício e timo; e tecido linfóide secundário – baço e tecidos linfóides no sistema respiratório, digestivo e tonsilas cecais. Os mecanismos da imunidade adquirida em aves têm dois componentes: um é o sistema bolsa-dependente, mecanismo responsável pela imunidade humoral; e o outro, é o sistema timo-dependente, e está relacionado com imunidade celular (KING, 1986).

O termo imunodepressão tem sido usado para expressar o estado de debilitação temporária ou permanente das funções do sistema imune, embora os danos para a saúde e desempenho da ave resultem muitas vezes na perda da viabilidade econômica ou produtiva (MARTINS et al., 2005).

Nos dias atuais com a indústria empregando a tecnologia atualizada o que temos é a perda parcial das funções imunes ou imunodepressão. Uma das principais causas de imunodepressão em frangos são os fatores infecciosos. Dentre eles podemos citar o vírus da anemia das galinhas (CIAV), o vírus da doença infecciosa da bolsa de Fabrício (VDIB), o vírus da doença de Marek (MDV), o vírus da leucose linfóide (ALV) entre outro (MARTINS et al., 2005).

Com relação às funções da bolsa de Fabrício, a DIB adquire importância por ter esse órgão como alvo de replicação do vírus promovendo alteração em sua morfologia e fisiologia.

2.2.1 Bolsa de Fabrício

A bolsa de Fabrício é um órgão encontrado somente nas aves. Trata-se de um saco redondo localizado imediatamente acima da cloaca, que alcança seu maior tamanho cerca de uma a duas semanas após a eclosão do ovo e depois sofre uma involução gradual. A bolsa de Fabrício consiste de linfócitos incrustados em tecido epitelial. Esse tecido epitelial reveste um saco oco conectado à cloaca por meio de um ducto. Dentro do saco, dobras de epitélio se estendem no interior do lúmen e os folículos linfóides se espalham através dessas dobras. Cada folículo se divide em um córtex e uma medula. O córtex possui linfócitos, plasmócitos e macrófagos. Na junção corticomedular existem uma membrana basal e uma rede capilar, no lado interno da qual encontra-se a célula epitelial. O centro do folículo é constituído de linfoblastos e linfócitos (TIZARD, 1998).

Não há presença de vasos sanguíneos no tecido conectivo entre os folículos. Há uma rede capilar que acompanha o córtex do folículo, e a medular é avascular. O antígeno entra por esta rede capilar na cortical. Vasos linfáticos estão presentes na lâmina própria. Em frangos jovens é comum encontrar grupos de heterófilos no tecido subepitelial ao longo da margem do folículo. O estágio final da involução da bolsa se dá com um ano de idade, e este é caracterizado por fibrose, presença de músculo liso, vasos sanguíneos, raros folículos e centro germinativo (POPE, 1996).

A bolsa de Fabrício funciona como um local de maturação e de diferenciação para as células do sistema formador de anticorpos. Seus folículos contêm mais de 90% de células B. Sendo assim é um órgão importante do sistema imune (TIZARD, 1998).

2.2.2 Doença infecciosa da Bolsa de Fabrício

O vírus da DIB (VDIB) afeta o tecido linfóide, principalmente a bolsa de Fabrício, causando imunodepressão nas aves, e favorecendo o aparecimento de enfermidades secundárias responsáveis por inúmeros prejuízos à indústria avícola.

A DIB foi descrita pela primeira vez por Cosgrove em 1962, após surtos ocorridos próximos a região de Gumboro, Delaware, Estados Unidos da América (LUKERT e SAIF, 1991; SIMON e ISHIZUKA, 2000).

A DIB é causada por um vírus da família *Birnaviridae*. Seu genoma consiste de uma molécula RNA de fita dupla, tem simetria icosaédrica e não possui envelope. As proteínas estruturais do VDIB são identificadas como VP1, VP2, VP3, VP4, VP5. As proteínas maiores são as VP2 e VP3, representando respectivamente 51% e 40% do peso total, e as menores são a Vp1 e Vp4 representando respectivamente 3% e 6% (SIMON e ISHIZUKA, 2000). O menor segmento de RNA genômico, denominado B, codifica VP1, enquanto que o maior segmento, denominado de A, codifica VP2, VP3, VP4 e VP5. VP2 e VP3 são proteínas principais do capsídeo viral e contém os principais epítomos neutralizantes desse vírus, sendo que VP2 expressa os epítomos sorotipo específico, enquanto que VP3 apresenta epítomos grupo específico. As cepas ou tipos de cada sorotipo são resultantes de mutação genética, que ocorre nos aminoácidos localizados principalmente na proteína maior VP2, responsável pela resposta imune protetora contra a DIB (MONTASSIER, 2001). Muitas dessas estruturas e seqüências são essenciais para viabilidade do vírus da doença de Gumboro enquanto outras são específicas para algumas cepas e tipos, incluindo sorotipos e patotipos. Cada modificação na estruturação genética destas estruturas e da regulação protéica e/ou as seqüências podem influenciar o ciclo viral, a especificidade para o hospedeiro e a virulência da cepa (VAN DEN BERG e ETERRADOSSI, 2001)

Existem dois sorotipos, o primeiro que infecta principalmente galinhas e raramente perus, é o responsável pela DIB (SIMON e ISHIZUKA, 2000). Um grande número de variantes antigênicas do sorotipo um foi identificado pela técnica de vírus neutralização (MONTASSIER, 2001). O sorotipo dois, descrito em 1980 por Mc Ferran et al, foi primeiramente descrito em perus e depois em galinhas. É menos virulento que o primeiro sorotipo ou até avirulento, tanto para perus como para galinhas. As amostras, dentro de um mesmo sorotipo, podem ser descritas como variantes antigênicas, causando somente imunossupressão e doença subclínica, e variantes patogênicas com manifestação clássica da doença e mortalidade elevada (SIMON e ISHIZUKA, 2000).

- Na década de 70 foram detectadas, nos EUA, variantes do VDIB a partir de lotes vacinados com cepa clássica padrão (LEFFER, 2004). Em meados dos anos 80 ocorreram problemas imunossupressivos na área avícola de Delaware nos EUA. Saif e Rosenberger isolaram uma variante antigênica do vírus da DIB que era a causa aparente destes

problemas no campo. O que ocorria era que estas variantes antigênicas estavam vencendo a barreira de anticorpos maternos antes que as vacinas “intermediárias” fossem administradas. Demonstrou-se que estas variantes tinham apenas de 10 a 20% de relação com as cepas padrões do vírus da DIB. Em 1987 foram descritas cepas altamente virulentas na Inglaterra, Holanda, Bélgica, Alemanha Ocidental, Norte da França, África do Sul e Israel. Atualmente estas cepas de alta patogenicidade estão disseminadas em todo o mundo, mas não foram descritas, nos Estados Unidos da América (SIMON e ISHIZUKA, 2000). Estas cepas podem causar nível muito elevado de mortalidade e têm sido conhecidas como vírus muito virulentos da DIB (vvVDIB) (LUKERT, 1993b).

No Brasil até meados da década de 90 a doença era predominantemente sub-clínica. As vacinas comerciais de mercado conferiam proteção satisfatória (LEFFER, 2004). Desde 1997 surtos da doença provocados por uma cepa virulenta de alta patogenicidade, similar às cepas virulentas européias, vêm aparecendo em todos os estados produtores de frangos de corte e em algumas regiões de criação intensiva de poedeiras comerciais (SIMON e ISHIZUKA, 2000).

Pintos infectados precocemente com o vírus da DIB foram mais suscetíveis a outras enfermidades como: coccidiose, doença de Marek, dermatite gangrenosa entre outras afecções (ANDERSON et al., 1977).

O efeito imunossupressor do vírus da DIB pode ser verificado no matadouro, onde as perdas por: caquexia, aerossaculite, septicemia-toxemia e doenças de pele como celulite e outras afecções têm suas elevações (ROSALES, 1999; FALLAVENA, 2001).

2.2.2.1 Imunidade

Em relação ao controle da DIB, de maneira geral, há duas formas diferentes de medidas profiláticas, mas que devem ocorrer simultaneamente. Uma é a forma inespecífica de prevenção, relacionada a fatores de biossegurança, e a outra é a vacinação (LEFFER, 2004).

A imunização passiva é aquela transferida da mãe para os pintinhos através da gema do ovo, que é capaz de proteger contra infecções imunossupressoras

precoces. Esses anticorpos são elaborados pela galinha em consequência de infecção natural ou da vacinação. Quanto melhor for a vacinação da galinha, maiores serão os títulos de anticorpos que os pintinhos receberão passivamente, refletindo na uniformidade da imunidade populacional. A imunidade passiva de pintinhos oriundos de reprodutoras vacinadas perdura por uma a três semanas, e se tiverem recebido dose de reforço com vacina em adjuvante oleoso, a imunidade passiva poderá estender-se por quatro a cinco semanas (SIMON e ISHIZUKA, 2000).

A vacinação contra a DIB deve ser feita com muito cuidado, pois é um trabalho difícil. A imunização de reprodutoras é especialmente importante para que ocorra a transmissão adequada de proteção. Devemos ressaltar que existe interferência de anticorpos maternos (AcM) na eficiência da resposta vacinal (KREAGER, 1994; LUKERT et al., 1994).

Os extensivos exames de sangue realizados em muitos plantéis de frangos de corte e de poedeiras de reposição realçaram um grande problema, que é a variação enorme dos títulos de anticorpos em pintos recém-eclodidos. Isto foi o resultado de diferenças existentes entre os plantéis de origem e até mesmo dentro de um mesmo plantel. Esta diversificação é o resultado de uma grande variação diária na quantidade de anticorpos transmitidos aos ovos em eclosão. Devido a esta variabilidade, freqüentemente não é possível determinar com precisão a idade exata de vacinação de um lote completo, principalmente quando este é composto de dois ou mais lotes com uma concentração muito variável de anticorpos maternos (KOUWENHOVEN, 1993).

A vacinação no primeiro dia de vida das aves em progênie de matrizes vacinadas não é suficiente para proteger os animais por toda a vida. A interferência dos anticorpos maternos influencia no esquema de vacinação utilizado, a vacina só consegue ultrapassar a barreira de anticorpos e atingir a bolsa gerando uma resposta ativa quando esta barreira estiver num determinado nível e varia de acordo com o tipo de vacina. Os anticorpos maternos são essenciais para proteger as aves nos seus primeiros dias de vida contra o desafio de campo, porém esta imunidade age nos vírus vacinais interferindo no sucesso da vacinação (BERNARDINO, 2001).

No frango de corte o melhor período para vacinação vai depender dos níveis dos títulos de imunidade materna, via de aplicação e da virulência da cepa vacinal. Não existe um programa padrão a ser recomendado para controle da DIB. Deve-se

vacinar os frangos mais de uma vez para melhorar a cobertura vacinal dentro dos lotes aumentando assim a possibilidade de que a vacinação não sofra a interferência dos AcM (BERNARDINO, 2001; CARDOSO e PEREIRA, 2001).

As vacinas para o sorotipo 1 clássico são capazes de promover uma boa proteção, mas o problema é correlacionar os níveis de anticorpos maternos com o calendário de vacinação. Num futuro próximo deve-se trabalhar no desenvolvimento de vacinas seguras que transmita aos animais uma proteção durante todo o seu crescimento (VAN DEN BERG, 2000).

2.2.2.2 Diagnóstico

2.2.2.2.1 Elisa

O ELISA detecta basicamente todos os tipos de anticorpos (AA), IgG, IgM, IgA, anticorpos neutralizantes e não neutralizantes (DI FABIO, 2001). O teste imunoenzimático é o teste sorológico comumente usado para a detecção de anticorpos contra o vírus da DIB em lotes de aves. O teste de ELISA tem a vantagem de ser um teste rápido com os resultados facilmente analisados por programa de computador. Com estes programas se pode estabelecer um perfil de anticorpos de lotes reprodutores, que vai indicar os níveis de imunidade e dar a informação para o desenvolvimento de programas de imunização apropriados tanto para os reprodutores como para sua progênie (LUKERT, 1993a; DE HERDT et al., 2000; KNOBLICK et al., 2000).

O trabalho realizado por Cardoso et al. (1998) avaliou uma técnica de ELISA-sanduíche a partir de amostras de bolsa de Fabrício, para detecção direta e simultânea do Vírus da doença infecciosa da bolsa de Fabrício (VDIB) e para medir a resposta humoral utilizando os mesmos imunorreativos básicos.

2.2.2.2.2 PCR

A identificação do VDIB pela técnica molecular tem sido utilizada por vários pesquisadores (JACKWOOD e JACKWOOD, 1994; JACKWOOD e JACKWOOD, 1997; IKUTA, 2001; BOLIS et al., 2003). Existem diferentes formas de identificar e

isolar as cepas de VDIB. Dentre as metodologias descritas, existe consenso de que a análise da região variável do antígeno VP2 é alvo indicado para discriminação dos diferentes VDIBs. Esta região é responsável pela indução de anticorpos protetores, e base para diferenciação dos patotipos e subtipos virais, pois apresenta polimorfismo consistente, e boa correlação com subtipos caracterizados por vírus-neutralização (IKUTA, 2001).

Jackwood e Jackwood (1994) desenvolveram a técnica de transcrição reversa seguida pela reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) acoplada a digestão com enzimas de restrição para diferenciação de variantes antigênicas encontradas nos EUA . Lin et al. (1993) desenvolveram uma metodologia similar para diferenciar vvIBDVs prevalentes no Japão.

2.2.2.2.3 Anatomia patológica

Para monitorarmos os programas de vacinação contra DIB podemos realizar o estudo da bolsa de Fabrício, através de seu aspecto macroscópico e microscópico. O uso do bursômetro é orientado como forma de medir o diâmetro do órgão e avaliar possíveis alterações no tamanho, compatíveis com ação do vírus vacinal ou de campo. O bursômetro é uma régua que possui oito orifícios (estes vão de 1 a 8). A avaliação da bolsa de Fabrício no bursômetro deve ser feita de forma criteriosa, e a bolsa não deve ser forçada a passar pelos orifícios, ela deve passar normalmente caso isto não ocorra ela deve ser colocada no próximo orifício (BERNARDINO, 2001).

Um estudo realizado por Pereira (2004) utilizou o bursômetro e constatou que 44 frangos possuíam bolsa de tamanho 3 (10 mm de diâmetro); 61, com tamanho 4 (13 mm de diâmetro); 17, com tamanho 5 (16 mm de diâmetro); sete, com tamanho 6 (19 mm de diâmetro); e uma ave com tamanho 7 (22 mm de diâmetro). Os 130 frangos de corte analisados apresentaram lesões microscópicas na bolsa de Fabrício em maior ou menor grau de severidade a saber: lesões severas (escore 3) com intensa destruição folicular, formação de cistos foliculares e epiteliais, necrose e fibrose na bolsa de Fabrício foram observadas em 58 frangos; edema e depleção linfóide (escore 2) com atrofia folicular foram observados em 48 aves; e 24 aves apresentaram depleção linfocitária discreta na bolsa, mas mantiveram a arquitetura

do folículo (escore 1). A gravidade das lesões encontradas nas bolsas de Fabrício favoreceu o aparecimento de outras enfermidades como: coccidiose, aerossaculite, lesão na cabeça do fêmur, pericardite, verminose, enfermidades que depreciam o peso, afetando a qualidade das aves ao abate.

Macroscopicamente a bolsa de Fabrício pode apresentar-se edematosa e aumentada de tamanho nos casos de infecção pelo VDIB. O diagnóstico anatomopatológico da DIB passa, no entender da maioria dos especialistas, necessariamente pela histopatologia da bolsa de Fabrício, e preferencialmente também pela patologia tímico-esplênica. Cepas virulentas, de campo ou não, podem lesionar todos os folículos. Assim, nos estágios mais agudos da doença, microscopicamente ocorre uma extensiva necrose de parênquima linfóide, quando então se observam alterações regressivas nucleares intensas, notadamente picnose. Fluido proteináceo pode ser evidenciado na porção medular, assim como formação de cavidades pseudocísticas. Nos casos menos severos ou causados por cepas não tão virulentas, não é raro encontrar folículos lesados e folículos normais, ou então graus variados de alterações foliculares regressivas, existindo momentos em que o percentual de folículos normais é maior que os lesados (BORDIN, 2001).

A histopatologia auxilia na observação de lesões provocadas pelos efeitos desses vírus. Observando-se a severidade das lesões é possível diferenciar o tipo de infecção e possíveis falhas na proteção. As vacinas fortes contra DIB apresentam lesões, entre sete e 21 dias pós-aplicação, que podem ser similares às causadas pelo vírus de campo, quando avaliadas em uma coleta única de material para análise, podendo assim confundir o histopatologista e levar a um diagnóstico de efeito do VDIB na bolsa sem diferenciar vírus de campo de vacina forte. Sendo assim, o ideal seria coletar amostras em diferentes idades ou pelo menos no final do lote para que pudesse ser diferenciado o estado imune da bolsa a cada idade e se houve ou não regeneração do tecido linfóide na fase final do lote. Uma classificação histopatológica na bolsa foi baseada na depleção linfocitária, isto é: escore 0, depleção linfocitária 5%; escore 1, depleção linfocitária 25%; escore 2, depleção linfocitária 50%; escore 3, depleção linfocitária 75%; escore 4, depleção linfocitária 100%. Quando se está frente a um desafio subclínico torna-se mais difícil o diagnóstico da doença e também como saber se a vacina/programa está funcionando. Para esses casos, é sugerida uma monitoria em pelo menos três faixas de idade diferentes, como de 18 a 22 dias; de 24 a 28 dias e de 30 a 35 dias. Para

cada faixa de idade deve-se coletar material de cinco lotes diferentes e de cinco aves por faixa etária, no mínimo e, assim, por meio da histopatologia, identificar o grau de lesão existente na bolsa e se o mesmo é compatível com a ação vacinal ou com o vírus desafio. Resultados de depleção no tecido linfóide sem alteração na sorologia no final do lote podem indicar outro fator imunossupressor, como micotoxinas, estresse, Marek, Retrovírus, anemia e outros (BERNARDINO, 2004).

Musket et al. (1979) avaliaram a eficácia e riscos potenciais da suscetibilidade e imunidade materna das aves, comparando duas cepas vacinais. As aves utilizadas no estudo eram: Três grupos de pintinhos livres de patógenos específicos (SPF) e três grupos de pintinhos comerciais com imunidade materna. Um grupo de pintinhos SPF recebeu uma vacina, A e outra B. O mesmo foi realizado com os pintinhos comerciais. E um grupo SPF e um comercial ficaram sem receber vacinas (controle não vacinado). A vacina A, recomendada para ser administrada na água dos animais, foi administrada via ocular. A vacina B foi inoculada via intramuscular na pata esquerda da ave. O VDIB usado no desafio foi a cepa 52/70, isolada originalmente de um surto da doença no campo, e foi administrado via ocular com 0,025 ml contendo 10^2 dose média infectante por pintinho, dez dias após a aplicação de cada vacina. As aves foram vacinadas no sétimo, décimo quarto e no vigésimo dias de vida. Foi criado um escore histológico para avaliar as lesões na bolsa, nove e 20 dias após a vacinação. Escore 0, não há danos; escore 1, necrose branda em folículos isolados; escore 2, moderada depleção linfóide na maioria dos folículos ou severa depleção linfóide em folículos isolados; escore 3, mais de 50% dos folículos com severa depleção linfóide; escore 4, contorno dos folículos com apenas alguns linfócitos e aumento do tecido conjuntivo, cistos e espessamento do epitélio. A vacina B não causou danos significativos nas bolsas examinadas nove e vinte dias após vacinação tanto no grupo SPF quanto no comercial. A vacina A demonstrou danos causados nas bolsas examinadas em ambos os grupos e aos nove e vinte dias, sendo na última idade em graus variáveis de severidade. As duas vacinas protegeram os grupos suscetíveis, mas só a vacina A protegeu o grupo da imunidade materna.

Um trabalho realizado por Bolis et al. (2001) utilizou 200 aves da linhagem Ross, com um dia de vida. Estas foram vacinadas, pela via subcutânea com uma dose de vacina de Marek-Gumboro. As aves foram distribuídas em grupos de 50 pintinhos. Cada grupo foi selecionado ao acaso, e denominados de T 1, T 2, T 3 e T

4. O grupo T 1 não foi vacinado e nem desafiado. O grupo T 2 também não foi vacinado, o T 3 e o T 4 foram vacinados no 14º dia, respectivamente com vacina forte (Moulthrop G603) e vacina intermediária “plus” (228 E). Com 21 dias de idade os grupos T2, T 3 e T 4 receberam o desafio com vírus forte da DIB (vvIBDV 2050/97) identificado como sorotipo 1, grupo molecular 11 sendo muito virulento e promovendo mortalidade de 100% em aves SPF em 48 a 96 horas depois da inoculação. As bolsas de Fabrício foram processadas para análise microscópica e assim sendo foi montado um escore de 0 a 6 para classificar as lesões encontradas nas mesmas. O escore 0 - revelava que não havia alteração na bolsa; escore 1 - discreta dissociação do tecido conjuntivo, rarefação linfóide na área medular; escore 2 - degeneração e/ou linfócitos, plasmocitos ou macrófagos associados com discreta infiltração inflamatória; escore 3 - depleção linfóide da medular e cortical e/ou intensa degeneração das células do folículo linfóide associada com discreto edema e infiltração inflamatória, discreta invaginação epitelial e hiperplasia linfóide perivascular; escore 4 - degeneração das células da medular e cortical com moderado infiltrado inflamatório no interstício e camada epitelial ou depleção dos folículos linfóides, fibroplasia e alguns focos de invaginação epitelial; escore 5 - necrose medular com formação cística, infiltrado inflamatório com presença de granulócitos no parênquima e/ou necrose com hemorragia no interstício ou folículo linfóide, e/ou folículo linfóide com invaginação epitelial ou fibrose ou intensa fibroplasia intersticial; escore 6 - ausência de folículos linfóides devido a hemorragia e necrose, atrofia ou fibrose. As aves examinadas histopatologicamente com 7 a 14 dias de vida não apresentaram nenhuma alteração na bolsa de Fabrício. As aves do grupo T 3, com 21 dias, apresentavam folículos linfóides com degeneração e presença discreta de mononucleares. Das aves do grupo T 2 e T 4, nesta mesma idade, uma das sete bolsas analisadas apresentou discreta rarefação medular em alguns folículos. Todas as aves do grupo T 2 não vacinadas e desafiadas (2050/97) apresentaram severas lesões nos folículos linfóides com 28 a 42 dias de idade. Nas aves do grupo T 4, que foram vacinadas com a vacina intermediária “plus”, seis aves de sete apresentaram áreas inflamatórias na bolsa de Fabrício. Lesões intensas no grupo T 4 podem ser comparadas com as alterações observadas no grupo T 2, entretanto no grupo T 3, duas de sete aves apresentaram lesão similar. No período de 28 a 42 dias o escore de lesões do grupo T 3 foi menor do que o observado nos grupos T 2 e T 4. As aves do grupo T 3 apresentaram escore 3 com 42 dias de idade

entretanto as aves do grupo T 4 apresentaram escore igual ou superior que 4. O estudo demonstrou que a vacina forte dá uma melhor proteção a bolsa, independentemente dos danos causados no tecido da mesma.

Pereira et al. (2003) desenvolveram um estudo no qual escores histopatológicos foram adaptados de Muskett, et al. (1979) e Stewart-Browne Trampel, (1990) onde NH indicava uma bolsa de Fabrício com histologia normal; VH indicava uma bolsa com depleção linfóide compatível com ação da vacina intermediária contra a DIB; e DH indicava lesões histopatológicas compatíveis com a doença (depleção e necrose linfóide: infiltração interfolicular de células inflamatórias, edema, hiperemia, áreas de hemorragia, hiperplasia epitelial com presença de cistos, fibroplasia e folículos císticos). Nos resultados do trabalho 76,96% das aves examinadas apresentavam medida do diâmetro de bolsa de Fabrício compatível com o uso de vacina. O exame histopatológico confirmou cerca de 60% dos tamanhos de diâmetro de bolsa de Fabrício. Quando as aves apresentaram escores histológicos compatíveis com doença, 89% foram incluídas na medida de diâmetro de bolsa compatível com vacina, o que geraria uma certa confusão, caso fosse utilizada apenas uma dessas técnicas para diagnóstico.

2.3 CELULITE

2.3.1 Tecido epitelial

A pele é o maior órgão do corpo e, nas aves é pouco espessa nas regiões cobertas pelas penas justamente por estar protegida do contato físico com o meio ambiente, por estas estruturas queratinizadas (FALLAVENA, 2005b).

Basicamente a epiderme das aves é muito semelhante nas diversas partes do corpo, mas sua espessura possui certas variações em determinados locais. Normalmente temos 3-5 células de espessura no corpo das aves, mas em áreas descobertas (sem penas) a espessura da pele é muito maior, áreas como cabeças e patas. A epiderme é composta de duas camadas de queratinocitos: camada germinativa e camada córnea. A camada germinativa é composta de uma base, células espinhosas e camada de transição. Grãos de queratina são encontrados na camada de transição. A camada córnea é composta de uma lâmina queratinizada

anuclear. A região que separa a epiderme da derme é plana em muitas regiões da pele, mas em algumas áreas pode haver reentrâncias. É composta de uma camada superficial e outra profunda. A camada profunda é dividida em camada superior densa e frouxa baixa. Na camada superficial, fibras de colágeno estão dispostas frouxamente em volta de numerosos capilares enquanto que na camada profunda as fibras de colágeno estão dispostas justapostas e paralelas a superfície da pele. O tecido adiposo possui vasos sangüíneos e linfáticos, nervos, músculo liso e, a base do folículo plumoso fica na camada frouxa baixa. Os nervos sensoriais estão próximos dos folículos plumosos. A derme é separada do tecido subcutâneo através de uma camada de fibras elásticas. O tecido subcutâneo é composto de feixes de colágeno e gordura (PASS,1996).

2.3.2 Lesões cutâneas

Como se trata de um órgão com limitado espectro de respostas às agressões, o diagnóstico das diversas doenças que afetam a pele é difícil, sendo para isso necessária, muitas vezes, a obtenção de dados que incluam o histórico, a distribuição anatômica das lesões e a realização de exames laboratoriais, especialmente os histológicos. As principais doenças que causam lesões cutâneas em frangos de corte são a celulite, a boubá aviária, o carcinoma de células escamosas e as dermatites inespecíficas. A semelhança entre as lesões macroscópicas causadas por essas doenças torna possível a ocorrência de erros na interpretação dos dados. Dentre os fatores relevantes para o aparecimento de lesões cutâneas, os traumatismos passaram a merecer destaque especial, por representarem portas de entrada para patógenos. Outro fator a ser considerado é o funcionamento adequado do sistema imunológico das aves, uma vez que a pele representa uma barreira entre o corpo e o meio ambiente, está constantemente exposta à ação de agentes infecciosos (FALLAVENA, 2005b).

2.3.3 Etiologia da celulite

A celulite é o processo patológico caracterizado pela inflamação purulenta aguda e difusa do tecido subcutâneo, dissecando planos teciduais e podendo

envolver camadas musculares. A enfermidade pode estar localizada em diferentes partes do corpo (FALLAVENA, 2000a). Os lotes de frango que são afetados por celulite podem apresentar-se normais durante a criação, sendo o problema detectado durante a inspeção no abate. As lesões causadas pela celulite são encontradas tipicamente na região ventral, coxas, cabeça e pescoço (FALLAVENA, 2000a; SILVA e MOTA, 2003).

Descrita inicialmente na Grã-Bretanha em 1984, a doença chega a causar a condenação de um numero crescente de carcaças no mundo inteiro. Os prejuízos são superiores a 20 milhões de dólares anuais, como resultado de condenação nos frigoríficos (FALLAVENA, 2005b).

No Canadá, a celulite é a principal causa de condenação em frangos de corte, enquanto que nos EUA os prejuízos totais, considerando-se, além dos causados pela condenação das carcaças, os custos de medicação, diminuição na velocidade de processamento na indústria e as alterações no manejo, podem ser superiores a 70 milhões de dólares anuais (FALLAVENA, 2000a).

A celulite foi descrita inicialmente em frangos, com relatos em perus. Esses relatos foram confirmados em perus comercializados em “Upper Midwest”, caracterizada por alta mortalidade em toda criação associada a lesões de celulite. A pele dos animais apresentava-se engrossada contendo áreas com lesões. As lesões apareceram de forma aglomerada, com um a dois centímetros de diâmetros e com fluido de coloração amarelada. Houve um acúmulo de fluido gelatinoso na área do peito. A musculatura apresentava área de petéquias. A região da pata dos animais apresentava uma quantidade de sangue e fluido. Microscopicamente foram observadas na epiderme áreas de hiperqueratose, presença de “debris” celulares e heterofilos. Na derme e subcutâneo observou-se material eosinofílico amorfo depositado entre os feixes de colágeno, também havia presença de infiltrado inflamatório (CARR et al., 1996).

A doença apresenta etiologia multifatorial, havendo uma interação complexa de fatores ligados ao manejo, às aves, e à genética bacteriana (ELFADIL et al, 1996). Diversas bactérias têm sido associadas com a celulite, entre elas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*. Entretanto a *Escherichia coli* é a mais freqüentemente isolada e as aves com a doença podem também apresentar lesões típicas como perihepatite, salpingite e artrite (FALLAVENA, 2000a; NORTON et al., 2000; ANDRADE, 2005).

A *Escherichia coli* isolada de lesões de celulite não foi correlacionada como causa de doença em humanos. Entretanto análises genéticas demonstraram que alguns tipos de *Escherichia coli* isoladas de lesões de celulite foram compatíveis com as que causam septicemia e meningites em humanos (KUMOR, et al., 1998).

2.3.4 Manejo das aves

Várias pesquisas demonstraram que, para que a celulite ocorra é indispensável que a pele esteja lesada e que bactérias entrem em contato com a lesão, de modo a invadir e a multiplicar-se no hospedeiro. A ocorrência de traumatismos, especialmente os arranhões, vem aumentando por causa do incremento na densidade populacional e da utilização de programas de restrição alimentar e de iluminação, já que estes promovem acréscimo na competição pelo alimento e, também, por problemas no empenamento, os quais tornam a pele mais exposta. Outros fatores considerados importantes incluem a desinfecção inadequada dos galpões, a má qualidade da cama, dos bebedouros e dos comedouros, além de deficiência nutricional. As medidas para se reduzir a ocorrência de celulite poderiam ser resumidas em alguns pontos, tais como: promoção do desenvolvimento das penas; redução da carga bacteriana; diminuição na velocidade de crescimento das aves; decréscimo na presença de fatores estressantes (FALLAVENA, 2005b).

Elfaldil et al. (1996) desenvolveram um estudo sobre os fatores de risco no manejo de granjas, associados com celulites em frangos de corte no sul de Ontário. A celulite estava associada positivamente com lotes de machos e lotes mistos, com o uso de cama de palha, o uso de bacitracina de zinco como promotor de crescimento, e outras enfermidades diagnosticadas no matadouro. O tempo de descanso dos galpões estava associado negativamente com a celulite.

2.3.5 Diagnóstico Anatomopatológico

Macroscopicamente as lesões se caracterizam por aumento na espessura da pele e mudança na coloração desta, a qual pode variar desde amarelo-brilhante, amarelo opaco chegando até a marrom avermelhado. Ao corte há edema

subcutâneo, hemorragias musculares e presença de exsudato (MESSIER et al., 1993; FALLAVENA et al., 2000a; FALLAVENA, 2000b).

As múltiplas crostas fibrinosas (placas) são características da doença, mas estas podem não estar presente dificultando o reconhecimento da doença (MESSIER et al., 1993; FALLAVENA, 2000b; SILVA e MOTA, 2003).

Um estudo realizado por Messier et al. (1993) revelou lesões geralmente localizadas na área cloacal, bem caracterizadas e definidas, com coloração variando de amarelo claro a marrom na superfície da pele, que se apresentava espessada. Placas de coloração amarelada e fibrinocaseosas foram observadas no tecido subcutâneo e a fascia muscular que estava abaixo da placa estava coberta por petéquias. Microscopicamente as lesões encontradas apresentavam moderada hiperqueratose e hiperplasia da epiderme, espessamento fibroso da derme, evidenciando neovascularização, e infiltrado inflamatório difuso de mononucleares e heterófilos. Em alguns cortes observou-se ulceração focal na epiderme e presença de crosta. Houve a presença de granulomas, caracterizados por exsudato fibrinocaseoso, no tecido subcutâneo. Ao redor havia uma camada de células epitelióide e células multinucleadas gigantes e uma fina camada de células mononucleares misturadas com fibroblastos e colágeno. O exsudato encontrado no tecido subcutâneo era composto de debris celulares, tecido fibroso, células inflamatórias e colônias gram-negativas.

Peighambari et al. (1995a) encontraram em frango de corte lesões macroscópicas que eram caracterizadas por apresentar uma placa fibrinosa frouxamente localizada no tecido subcutâneo. A musculatura logo após a placa encontrava-se com áreas hemorrágicas, hiperemia focal e fluido.

Um estudo realizado por Onderka et al. (1997) revelou lesões macroscópicas e microscópicas da pele semelhantes às já descritas, além disso houve presença de infiltrado linfocitário e heterófilos no coração da maioria dos animais.

Microscopicamente observa-se inflamação do tecido subcutâneo, formando freqüentemente massas constituídas de restos celulares necróticos e bandas de fibrina, comumente circundadas por cápsula de tecido conjuntivo contendo heterófilos, linfócitos e macrófagos (PEIGHAMBARI et al., 1995b; FALLAVENA, 2000b; SILVA e MOTA, 2003). Nos casos mais graves a cápsula é circundada por gigantócitos e por uma camada de fibroblastos em proliferação (FALLAVENA et al., 2000a; FALLAVENA, 2000b).

As lesões de pele em frangos de corte assim como a celulite, despertam interesse em função dos prejuízos que acarretam aos produtores, os quais decorrem da condenação parcial ou total das carcaças, da redução no valor do produto final, do aumento do custo da mão-de-obra e da redução na velocidade de processamento industrial (FALLAVENA, 2003; SILVA e MOTA, 2003).

De acordo com a Normativa nº 210 de 10/11/1998 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, qualquer órgão ou parte da carcaça que estiver afetado por um processo inflamatório (como a celulite) deverá ser condenado e, se existir evidência de caráter sistêmico do problema, a carcaça e as vísceras na sua totalidade deverão ser condenadas (BRASIL, 1998)

3 MATERIAL E MÉTODO

Neste trabalho foi realizado um estudo epidemiológico de caso-controle, onde o grupo caso foi representado por frangos de corte portadores de celulite e o grupo controle, por frangos sem a enfermidade. As aves casos foram selecionadas após o desvio para julgamento e destino, no momento do abate. E, os controles coletados na linha de inspeção.

3.1 ORIGEM DO MATERIAL

O matadouro, onde se realizou a coleta do material, localiza-se próximo das granjas que fornecem as aves, na cidade de Maravilha no oeste do estado de Santa Catarina. O matadouro está sob Inspeção Federal, e o número de frangos abatidos por dia era de aproximadamente 160.000 animais. O estabelecimento trabalha com o sistema integração, portanto, todas as aves recebidas eram procedentes de granjas de pequenos produtores rurais integrados ou de granjas de cooperativas integradas.

3.2 AS AMOSTRAS

Foram estudados 128 (cento e vinte oito) frangos de corte com idade entre 40 e 48 dias de idade, das linhagens Cobb ou Ross, vacinados contra a DIB no décimo quarto dia de vida, via água de bebida. O material foi coletado no período de uma semana, na sala de necropsia do matadouro. O grupo caso foi representado por 68 aves, enquanto o controle foi de 60 aves. Foram coletados fragmentos de pele

(lesada e íntegra) e de bolsa de Fabrício, que foram acondicionados em formol a 10% para realização da histopatologia.

3.3 MEDIÇÃO DA BOLSA DE FABRÍCIO

As bolsas de Fabrício foram medidas em bursômetro antes de cortadas e acondicionadas em solução de formol a 10%. Os tamanhos das bolsas de Fabrício foram registrados de acordo com a escala do bursômetro, e feita a correspondência da numeração da escala com a medida em milímetros: um (4 mm); dois (7 mm); três (10 mm); quatro (13 mm); cinco (16 mm); seis (19 mm); sete (22 mm); oito (25 mm).

3.4 PROCESSAMENTO DOS TECIDOS PARA HISTOPATOLOGIA

O material coletado foi devidamente identificado em ficha própria e, enviado para o serviço de Anatomia Patológica Prof. Jefferson Andrade dos Santos na Universidade Federal Fluminense onde foram processados pela técnica habitual para inclusão em parafina.

Todos os fragmentos (pele e bolsas de Fabrício) foram clivados e submetidos às etapas de processamento, tais como: fixação, clivagem, desidratação, clareamento, impregnação, inclusão, montagem e coloração pela hematoxilina-eosina (H.E).

Baseando-se no escore montado por Pereira (2004), foi criado um escore para análise histopatológica das lesões.

Escore 0 – sem lesão

Escore 1 – edema, discretas hiperplasia, rarefação linfóide folicular e fluido acidófilo.

Escore 2 – infiltrado inflamatório, discreta atrofia de folículos, rarefação linfóide severa e necrose folicular.

Escore 3 – atrofia severa de folículos, cistos foliculares e epiteliais e fibrose.

Nos casos de concomitância de lesões de escores diferentes, foram considerados os graus mais elevados.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A relação entre diâmetro da bolsa de Fabrício, e escores de lesões histológicas para os grupos caso e controle foram analisados pelo teste de Qui-quadrado Kruskal-Wallis, enquanto a relação do diâmetro e dos escores de lesão da bolsa com a idade das aves nos grupos caso e controle foi realizada pela Regressão Linear (THRUSFIELD, 1995).

4 RESULTADOS

4.1 CELULITE

4.1.1 Exame macroscópico

Macroscopicamente as lesões cutâneas localizavam-se na coxa, dorso e área cloacal, caracterizada por um aumento na espessura da pele e coloração amarelo-avermelhada (Figura 1). Ao corte observava-se no subcutâneo, edema, exsudato e a presença de placas amareladas às vezes destacáveis (Figura 2).

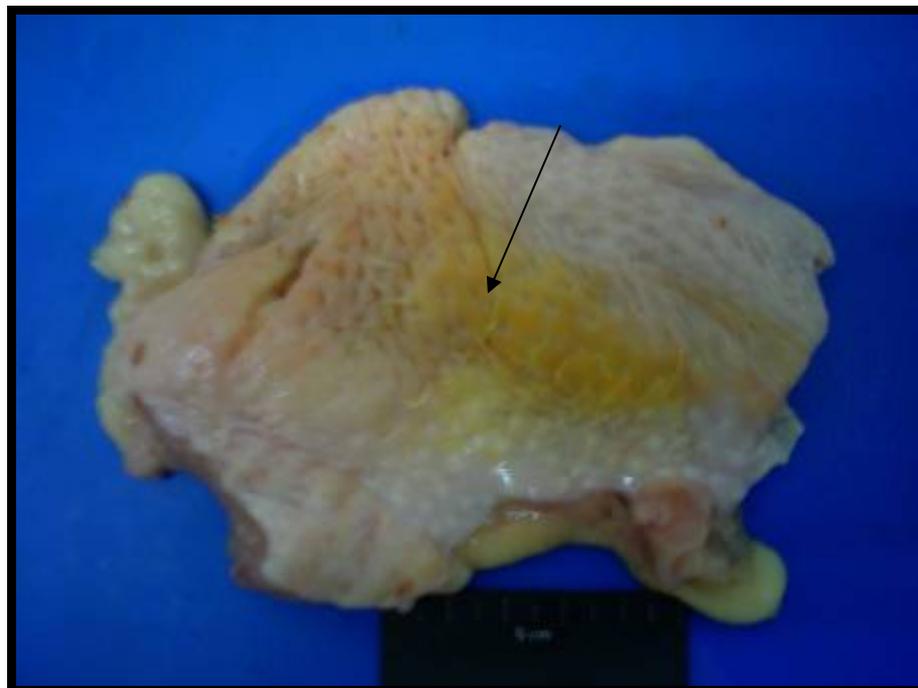


Figura 1 – Frango. Celulite. Pele espessada de coloração amarelada (seta).

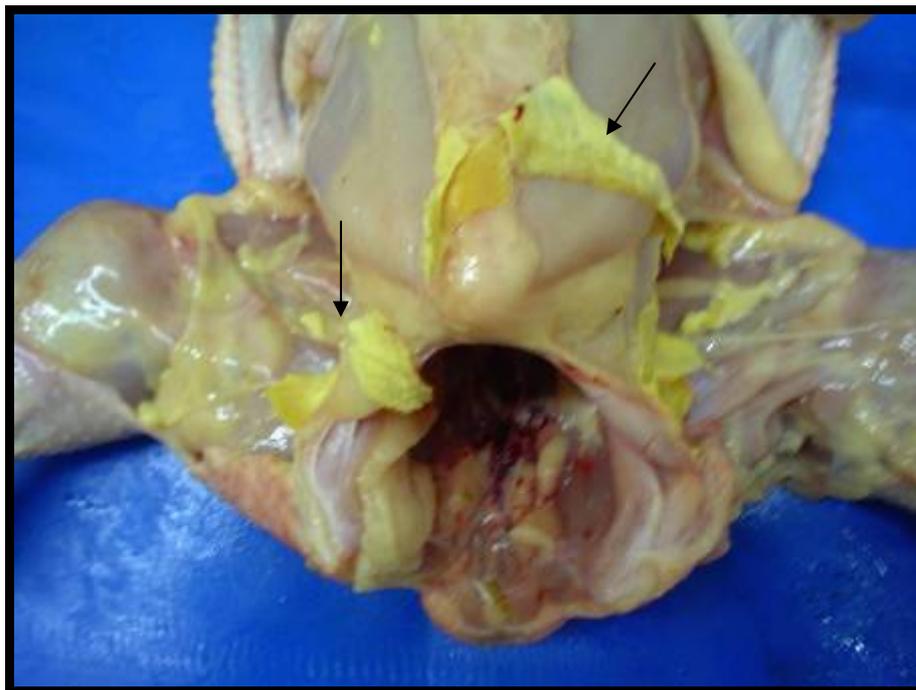


Figura 2 – Frango. Celulite. Inúmeras placas fibrinosas (setas).

4.1.2 Exame histopatológico

Microscopicamente as lesões foram constituídas, por placas fibrinosas ricas em detritos celulares envoltas por uma barreira de macrófagos e células gigantes multinucleadas (Figura 3). Na periferia era freqüente o infiltrado difuso misto de mononucleares e heterófilos, tecido de granulação, edema e restos celulares (Figura 4). Era comum a infiltração também da musculatura regional (Figura 5).

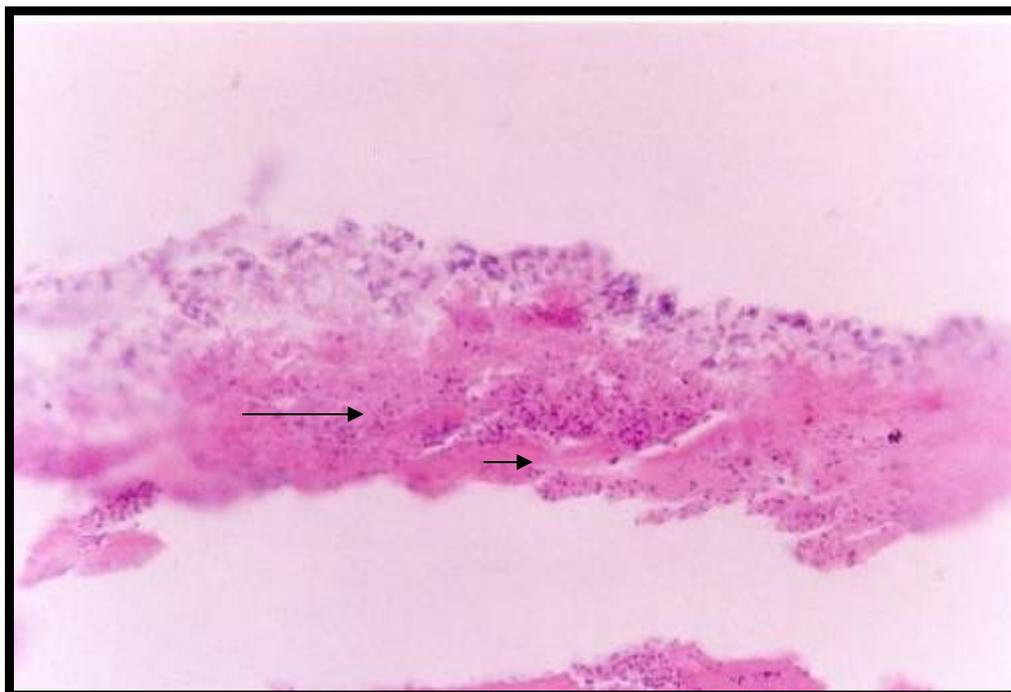


Figura 3 – Frango. Celulite. Placa de característica fibrinosa rica em restos celulares (seta), envolta por macrófagos e células gigantes multinucleadas (cabeça de seta). H.E. obj. 20X

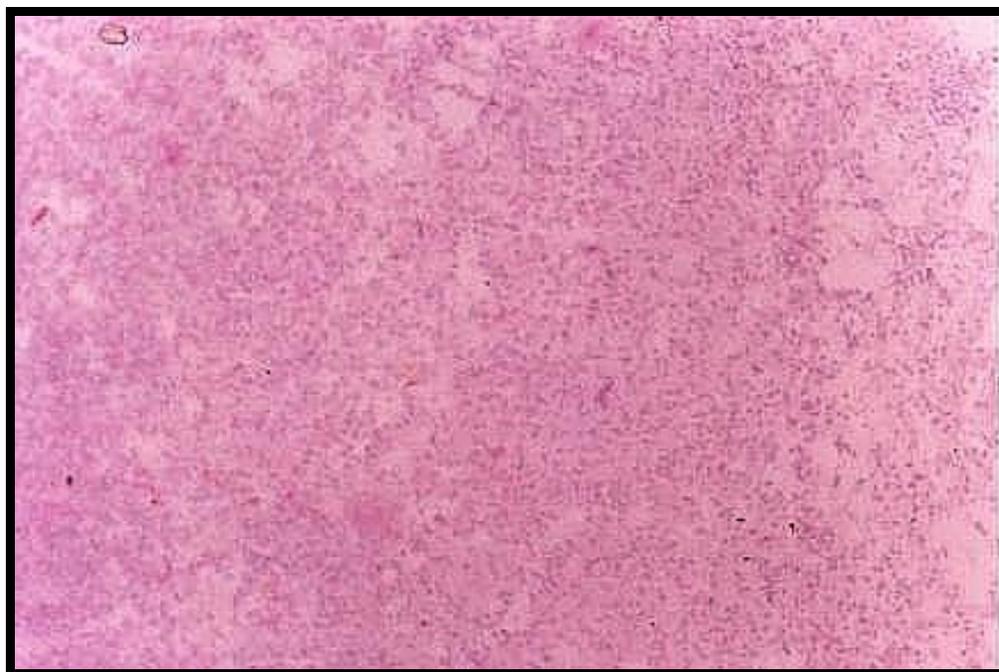


Figura 4 - Frango. Celulite. Edema e restos celulares no tecido subcutâneo.H.E. obj. 10X

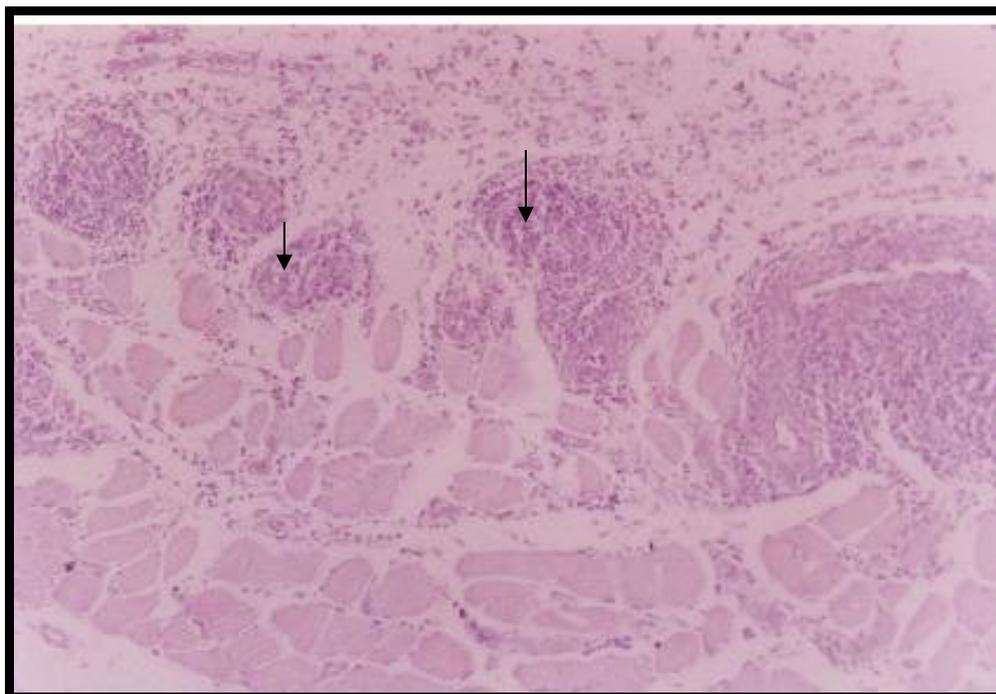


Figura 5 – Frango. Celulite. Múltiplos nódulos (seta) de constituição mononuclear na musculatura regional. H.E. obj. 10X

4.2 BOLSA DE FABRÍCIO

4.2.1 Exame macroscópico e Medição da bolsa de Fabrício

As bolsas não apresentaram nenhuma alteração significativa em seu exame macroscópico tanto no grupo caso quanto no controle.

As bolsas de Fabrício apresentaram os seguintes resultados na mensuração na escala do bursômetro, convertida em milímetros (Tabela 1): a) grupo caso - 28 frangos com bolsas de diâmetro 10 mm (tamanho 3); 37, com diâmetro 13 mm (tamanho 4) (Figura 6); três, com diâmetro 16 mm (tamanho 5); b) grupo controle – 26 frangos com bolsas de diâmetro 10 mm (tamanho 3); 31, com diâmetro 13 mm (tamanho 4); três, de diâmetro 16 mm (tamanho 5).

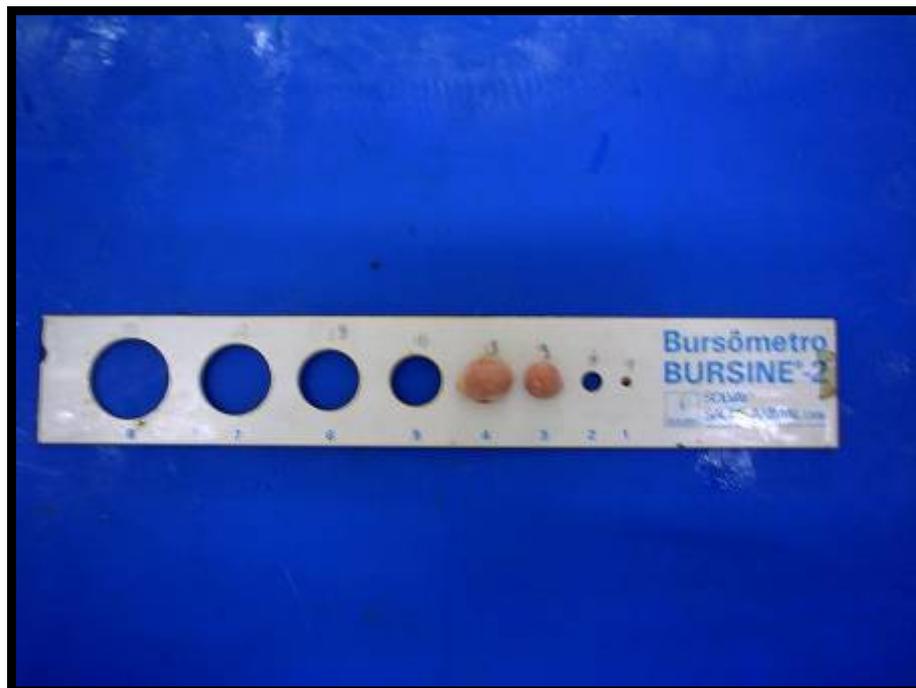


Figura 6 – Bursômetro com bolsas de tamanhos 3 e 4.

Tabela 1. Diâmetro da bolsa de Fabrício em frangos de corte portadores de celulite (caso) e sem a enfermidade (controle)

GRUPO	Diâmetro da bolsa de Fabrício no Bursômetro (mm)			TOTAL
	3 (10 mm)	4 (13 mm)	5 (16 mm)	
CASO	21,87 (28/128)	28,90 (37/128)	2,34 (3/128)	53,125 (68/128)
CONTROLE	20,31 (26/128)	24,21 (31/128)	2,34 (3/128)	46,875 (60/128)
TOTAL	42,18 (54/128)	53,12 (68/128)	4,68 (6/128)	100 (128/128)

Kruskal- Wallis , $p \leq 0,05$

Em relação ao diâmetro da bolsa de Fabrício, houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos caso e controle, com os tamanhos menores (10 e 13 mm) de bolsa em maior proporção no grupo caso.

4.2.2 Exame histopatológico

• Em ambos os grupos o exame microscópico da bolsa, revelou múltiplas alterações de folículos e interstício freqüentemente acompanhadas de cistos no epitélio de revestimento das pregas (Figura 7). As lesões foliculares apresentavam as seguintes características: material fluido fortemente acidófilo entre os elementos linfóides da medular (Figura 8); infiltrado de heterófilos, ora na cortical, ora em todo o folículo, ora no interstício (Figura 9); necrose afetando de poucos a inúmeros folículos (Figura 10); rarefação discreta a intensa dos elementos linfóides (Figura 11); atrofia dos folículos, por vezes com desaparecimento dos elementos linfóides; cistos de diâmetros variados na medular e justacortical, preenchidos, às vezes, com fluido acidófilo (Figuras 12 e 13). As lesões do interstício eram representadas por fibrose (Figura 14 e 15), bem como por infiltração inflamatória de mononucleares e edema (Figura 16). Somente uma ave do grupo controle não apresentou alterações. Freqüentemente foi observado concomitância de alterações de escores variados.

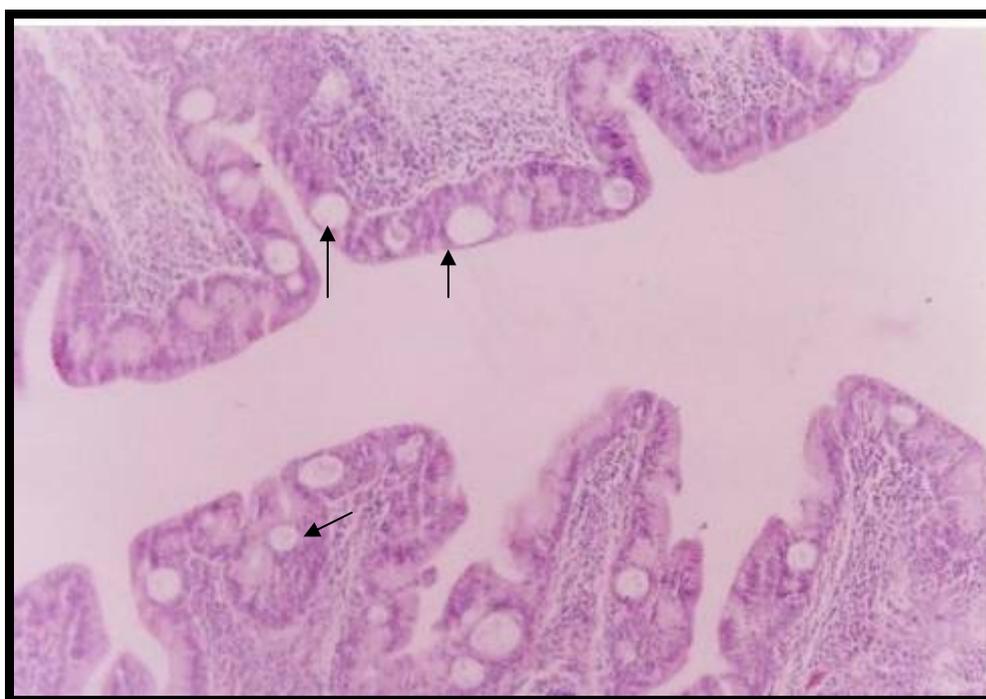


Figura 7 – Frango. Bolsa de Fabrício. Numerosos cistos no epitélio de revestimento da prega (seta). H. E obj. 10X

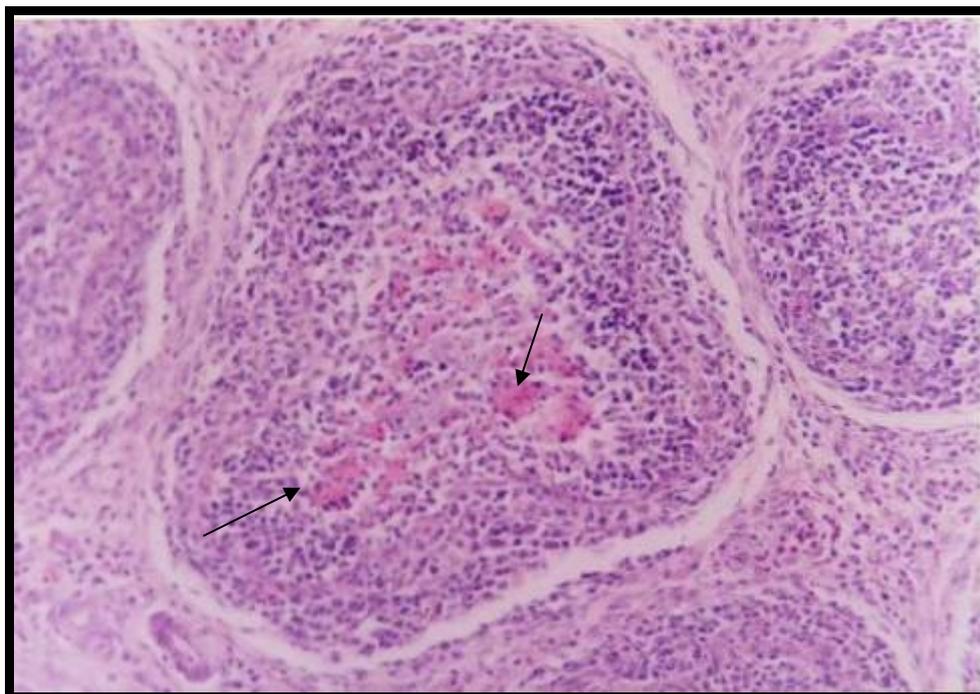


Figura 8 – Frango. Bolsa de Fabrício. Folículo apresentando fluido acidófilo (seta) envolto por acentuada fibrose e elementos celulares inflamatórios (cabeça de seta). H.E obj. 20X

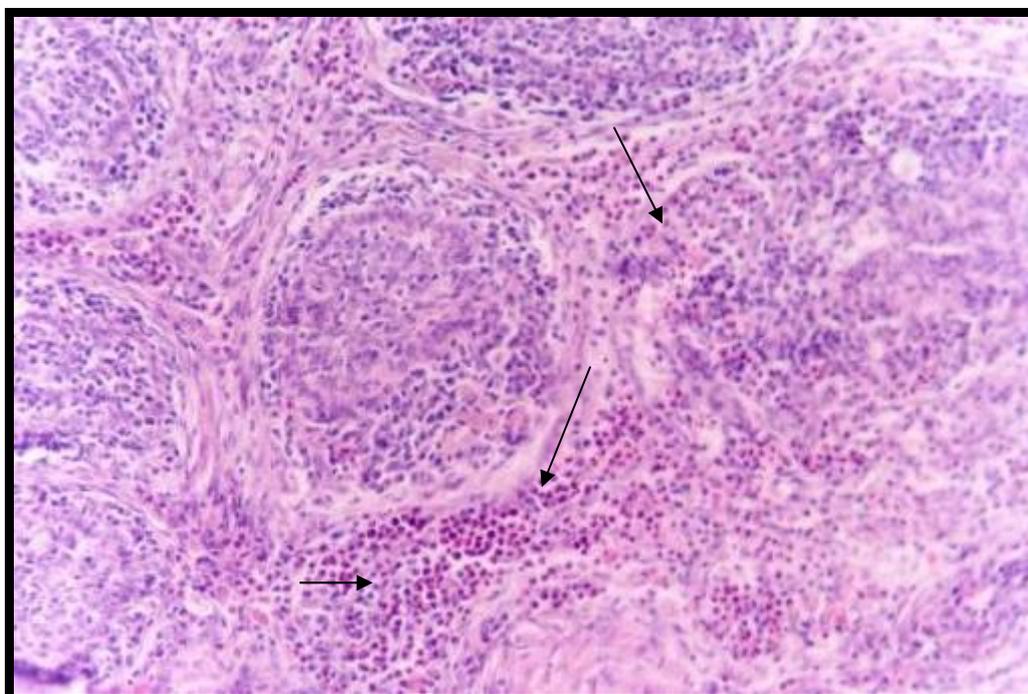


Figura 9 – Frango. Bolsa de Fabrício. Infiltrado de heterófilo no interstício (seta) espessado por fibrose (cabeça de seta). Perda da arquitetura do órgão.H.E. obj. 20X

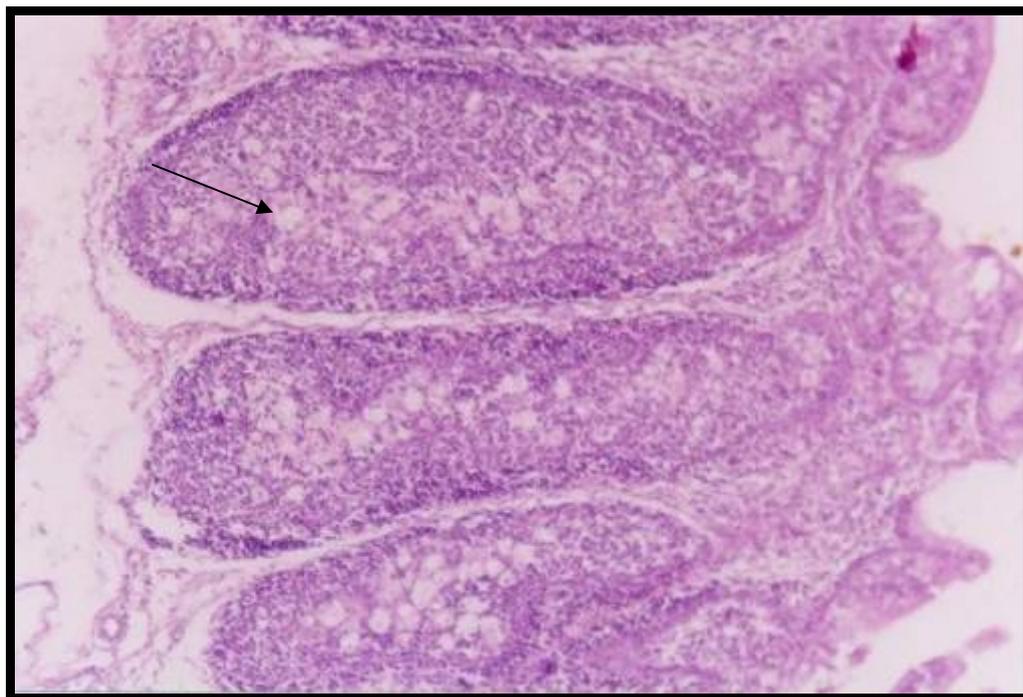


Figura 10 – Frango. Bolsa de Fabrício. Necrose dos elementos linfóides de múltiplos folículos (seta). H.E. obj. 10X

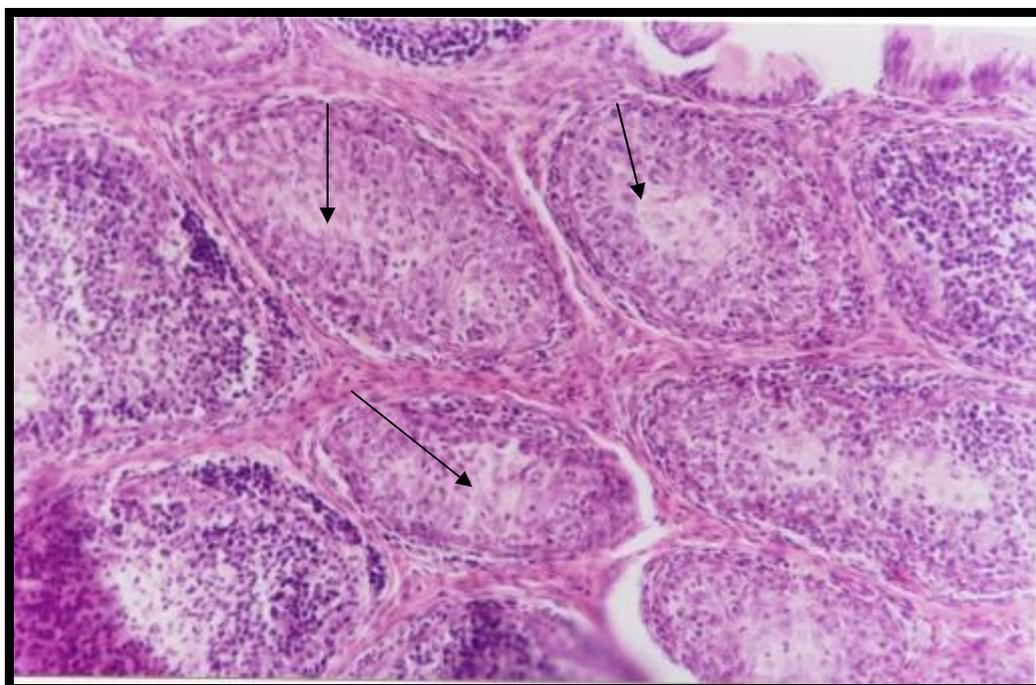


Figura 11 – Frango. Bolsa de Fabrício. Rarefação dos elementos linfóides dos folículos (seta) envolvidos por fibrose (cabeça de seta). H. E..obj. 20X



•
Figura 12 – Frango. Bolsa de Fabrício. Presença de múltiplos cistos, de variados diâmetros, intrafolliculares (seta). H.E. obj. 10X



Figura 13 – Frango. Bolsa de Fabrício. Destruição de folículos por cistos solitários , que mostram substância acidófila (seta). H.E. obj. 10X

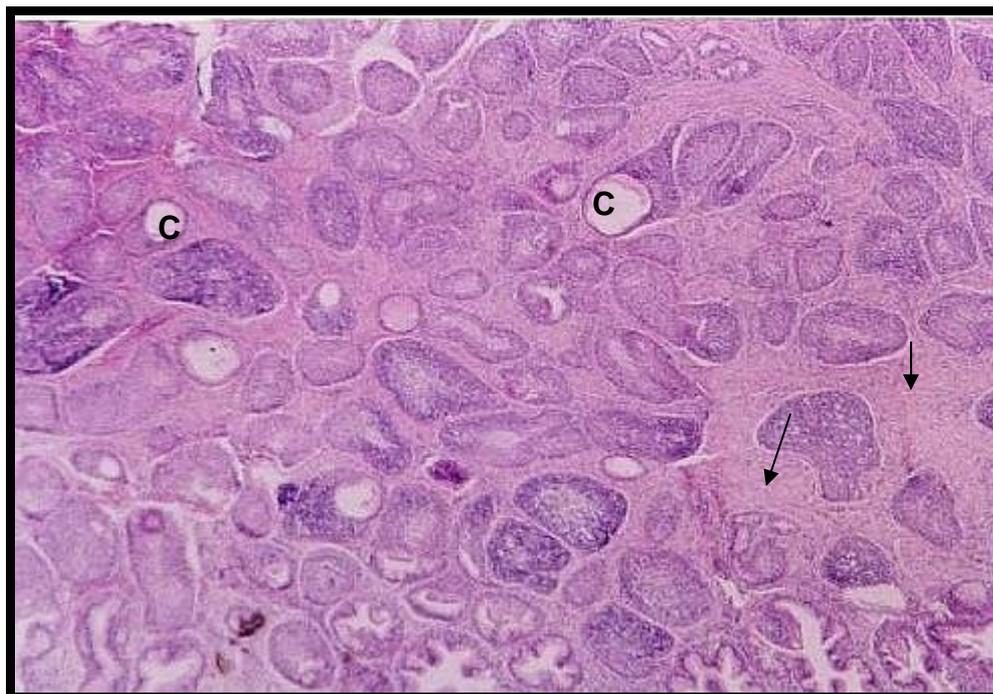


Figura 14 – Frango. Bolsa de Fabrício. Aspecto cirrótico do órgão. Nota-se acentuada fibrose (seta), atrofia de folículos (cabeça de seta) e múltiplos cistos foliculares (C). H.E. obj. 4X

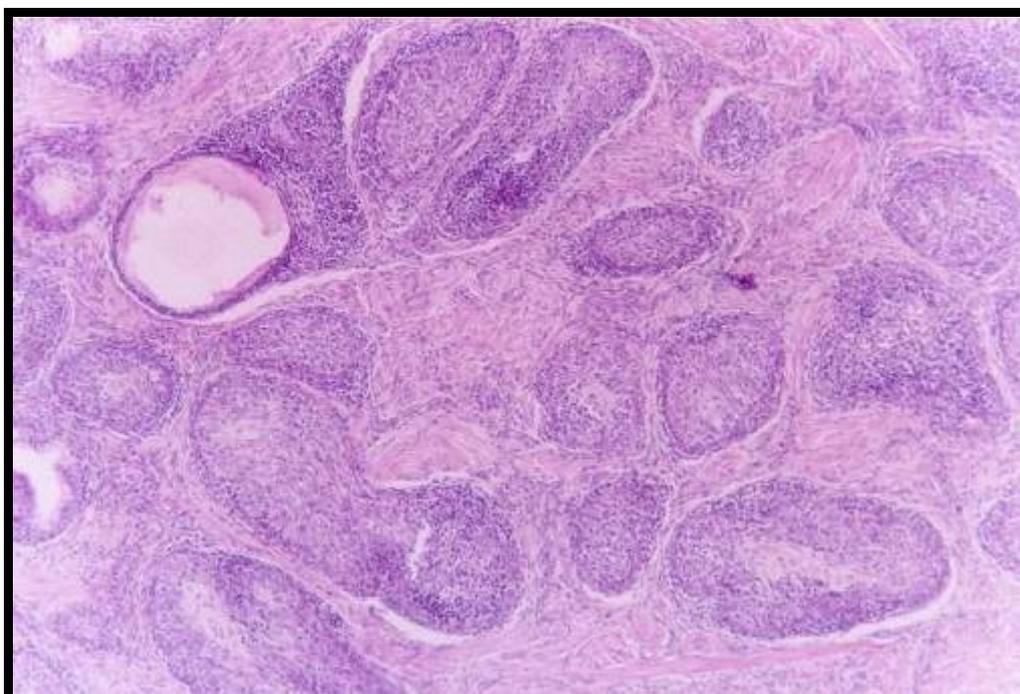


Figura 15 – Frango. Bolsa de Fabrício. Detalhe da figura anterior. H.E. obj. 10X

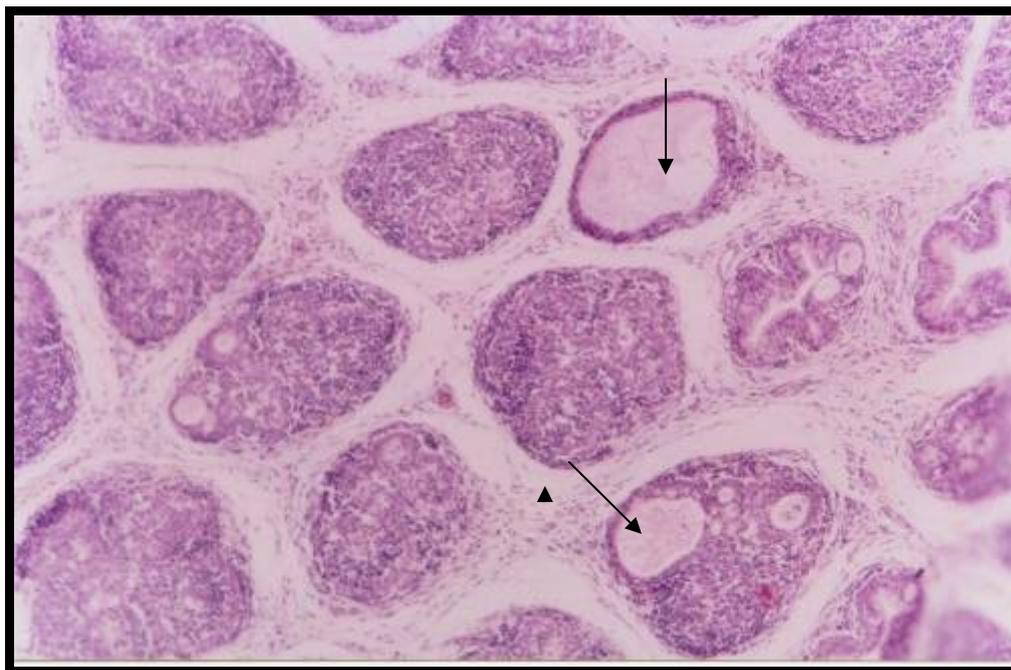


Figura 16 – Frango. Bolsa de Fabrício. Cistos foliculares em folículos (seta) envolvidos por discreto edema e proliferação de tecido conjuntivo (cabeça de seta). H.E. obj.10X

As alterações de caráter individual referentes a cada grupo (caso e controle) constam dos quadros 1 e 2.

Quadro 1 – Análise histopatológica do grupo caso.

AVES	LESÕES
1	CISTOS, FIBROSE
2	DISCRETA FIBROSE COM INFILTRADO MONONUCLEAR, CISTOS EPITELIAIS
3	CISTOS FOLICULARES E EPITELIAIS
4	FIBROSE, ATROFIA FOLICULAR, CISTOS
5	FIBROSE, ATROFIA
6	NECROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR
7	CISTOS FOLICULARES, NECROSE
8	TRANSFORMAÇÃO CISTICA DE FOLÍCULOS, PRESENÇA DE GRANULÓCITOS
9	DISCRETA FIBROSE, ATROFIA DE FOLÍCULOS
10	CISTOS, FIBROSE, INFILTRADO POR GRANULÓCITO
11	FIBROSE, NECROSE FOLICULAR, RAROS CISTOS
12	DISCRETA FIBROSE, ATROFIA, CISTOS, GRANULÓCITOS
13	ATROFIA, REREFACÇÃO LINFOIDE, CISTOS
14	FIBROSE, CISTOS, ATROFIA DE FOLÍCULOS, INFILTRADO POR MONONUCLEARES
15	CISTOS, FIBROSE, INFILTRAÇÃO POR MONONUCLEARES
16	FIBROSE, CISTOS
17	FIBROSE, ATROFIA, ACENTUADA RAREFAÇÃO LINFOÍDE
18	RAREFAÇÃO LINFOÍDE, EDEMA, ATROFIA DISCRETA
19	CISTOS MÚLTIPLOS
20	CISTOS, FIBROSE, INFILTRAÇÃO POR MONONUCLEARES
21	CISTOS, FIBROSE, INFILTRADO POR GRANULÓCITO

Quadro 1 – Análise histopatológica do grupo caso (continuação)

AVES	LESÕES
22	FIBROSE, ATROFIA, CISTOS
23	ATROFIA, FIBROSE, INFILTRADO DE MONONUCLEARES, CISTOS
24	RAROS CISTOS, DISCRETO INFILTRADO DE GRANULÓCITOS
25	FIBROSE, ATROFIA, CISTOS FOLICULARES
26	CISTOS, FIBROSE, ATROFIA
27	INTENSA NECROSE FOLICULAR, CISTOS EPITELIAIS, ATROFIA SEVERA
28	EDEMA, INFILTRAÇÃO DE GRANULÓCITOS
29	CISTOS, INFILTRAÇÃO POR MONONUCLEARES
30	FIBROSE COM RAREFAÇÃO LINFOÍDE
31	HIPERPLASIA
32	DISCRETA ATROFIA FOLICULAR
33	CISTOS, DISCRETA FIBROSE COM INFILTRAÇÃO POR MONONUCLEARES
34	FIBROSE, CISTOS, INFILTRADO DE GRANULÓCITOS
35	CISTOS, ATROFIA FOLICULAR, INFILTRADO DE GRANULÓCITOS
36	FIBROSE INTENSA, RAREFAÇÃO LINFOÍDE
37	HIPERPLASIA
38	NECROSE, FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR
39	NECROSE, INTENSA RAREFAÇÃO LINFOÍDE
40	EDEMA, CISTOS
41	CISTOS, FIBROSE
42	DISCRETA ATROFIA FOLICULAR
43	DISCRETA FIBROSE, EDEMA, GRANULÓCITOS EM FOLÍCULOS
44	FIBROSE COM INFILTRADO MONONUCLEAR INTERSTICIAL, CISTOS
45	EDEMA, INFILTRADO DE GRANULÓCITOS
46	FIBROSE, CISTOS
47	FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR
48	ATROFIA, FIBROSE, INFILTRADO DE MONONUCLEARES E RAREFAÇÃO LINFOÍDE
49	INTENSA RAREFAÇÃO LINFOÍDE, NECROSE
50	CISTOS, FIBROSE, EDEMA, GRANULÓCITOS
51	CISTOS, FIBROSE
52	CISTOS, FIBROSE
53	NECROSE
54	FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR, CISTOS, RAREFAÇÃO LINFOÍDE
55	CISTOS, FIBROSE
56	RAREFAÇÃO LINFOÍDE SEVERA
57	EDEMA, GRANULÓCITOS, CISTOS
58	FIBROSE
59	CISTOS, DISCRETA FIBROSE
60	FIBROSE, INFILTRAÇÃO POR MONONUCLEARES, CISTOS FOLICULARES
61	CISTOS, FIBROSE, ATROFIA DOS FOLÍCULOS, INFILTRADO POR MONONUCLEARES
62	ATROFIA DE FOLÍCULOS, FIBROSE
63	CISTOS, FIBROSE, INFILTRADO DE MONONUCLEARES, EDEMA
64	FIBROSE COM ATROFIA
65	NECROSE, ATROFIA DISCRETA, INFILTRADO MONONUCLEAR
66	CISTOS, FIBROSE
67	FIBROSE, ATROFIA
68	FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR

Quadro 2. Análise histopatológica do grupo controle

AVES	LESÕES
1	RAREFAÇÃO LINFOÍDE, DISCRETA ATROFIA
2	RAREFAÇÃO, FIBROSE, ATROFIA
3	EDEMA, RAREFAÇÃO LINFOÍDE SEVERA
4	DISCRETA FIBROSE, INFILTRADO DE GRANULÓCITOS, EDEMA
5	CISTOS, ACENTUADA INFILTRAÇÃO DE HETERÓFILOS
6	ASPECTO NORMAL
7	EDEMA, DISCRETA ATROFIA FOLICULAR
8	CISTOS, FIBROSE
9	CISTOS EPITELIAIS, FIBROSE, EDEMA, INFILTRADO DE HETERÓFILOS
10	FIBROSE, ATROFIA, RAREFAÇÃO LINFOÍDE
11	EDEMA, RAREFAÇÃO LINFOIDE SEVERA
12	RAREFAÇÃO LINFOÍDE, DISCRETA FIBROSE
13	RAREFAÇÃO LINFOÍDE COM EDEMA, DISCRETA ATROFIA FOLICULAR
14	CISTOS , FIBROSE
15	DISCRETA FIBROSE, RAREFAÇÃO LINFOIDE, ATROFIA
16	ATROFIA FOLICULAR DISCRETA
17	CISTOS, FLÚIDO FOLICULAR, RAREFAÇÃO LINFOÍDE
18	EDEMA, NECROSE, ATROFIA, CISTOS EPITELIAIS
19	EDEMA, RAREFAÇÃO LINFOÍDE, DISCRETA ATROFIA
20	FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR
21	FIBROSE, CISTO, INFILTRADO DE GRANULÓCITOS
22	CISTOS, FIBROSE, INFILTRADO POR MONONUCLEARES
23	INFILTRADO PERIFOLICULAR POR GRANULOCITOS
24	EDEMA, CISTOS
25	CISTOS, RAREFAÇÃO LINFOÍDE, FLÍDO FOLICULAR
26	FIBROSE, EDEMA, INTENSA VARIAÇÃO DO DIÂMETRO DOS FOLÍCULOS
27	FIBROSE COM ATROFIA
28	DISCRETA FIBROSE, RAREFAÇÃO LINFOIDE
29	FIBROSE, ATROFIA, NECROSE
30	CISTO, RAREFAÇÃO LINFOÍDE
31	ATROFIA FOLICULAR, SUBSTÂNCIA INTRAFOLICULAR ACIDÓFILA
32	FOLÍCULO HIPERPLÁSICO, NECROSE, ATROFIA DE ALGUNS FOLÍCULOS, CISTOS, FIBROSE
33	RAREFAÇÃO LINFOÍDE, NECROSE DE FOLÍCULOS, FIBROSE, EDEMA, CISTOS
34	ATROFIA, COM ACENTUADA FIBROSE
35	NECROSE FOLICULAR, RAREFAÇÃO DE ELEMENTOS LINFOIDES, EDEMA
36	RAREFAÇÃO LINFOÍDE, EDEMA, DISCRETA FIBROSE, ATROFIA
37	RAREFAÇÃO LINFOÍDE, ATROFIA DISCRETA
38	NECROSE, RAREFAÇÃO LINFOÍDE, FIBROSE, ATROFIA, CISTOS
39	ACENTUADA ATROFIA FOLICULAR, NECROSE, FIBROSE
40	ACENTUADA RAREFAÇÃO DE ELEMENTOS LINFOÍDES
41	CISTO, FIBROSE
42	POUCOS FOLÍCULOS ATROFIADOS
43	DISCRETA FIBROSE, INFILTRAÇÃO DE MONONUCLEARES, RAREFAÇÃO LINFOÍDE
44	CISTOS EPITELIAIS DE REVESTIMENTO, NECROSE, FIBROSE
45	CISTOS MÚLTIPLOS, ATROFIA DE FOLÍCULOS, EDEMA, NECROSE

Quadro 2. Análise histopatológica do grupo controle (continuação)

AVES	LESÕES
46	FIBROSE, ATROFIA DE FOLÍCULOS, CISTOS
47	EDEMA, DISCRETA FIBROSE, CISTOS
48	ATROFIA, FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR
49	DISCRETO INFILTRADO MONONUCLEAR, FIBROSE, EDEMA
50	HIPERPLASIA DE FOLÍCULOS, FIBROSE
51	ATROFIA, FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR, NECROSE
52	FIBROSE, RAREFAÇÃO LINFOÍDE, INFILTRADO MONONUCLEAR
53	HIPERPLASIA FOLICULAR, FLUÍDO FOLICULAR
54	ACENTUADA ATROFIA, FIBROSE
55	CISTOS, DISCRETA FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR
56	EDEMA, FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR
57	CISTOS, FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR, NECROSE
58	CISTO, FIBROSE
59	NECROSE, FIBROSE, INFILTRADO MONONUCLEAR
60	ATROFIA FOLICULAR DISCRETA

As bolsas de Fabrício apresentaram os seguintes escores na microscopia: a) grupo caso - nenhum frango apresentou escore 0; dois, com escore 1; 11, com escore 2; 55, com escore 3; b) grupo controle – um frango com escore 0; um, com escore 1; 14, com escore 2; 44, com escore 3 (Tabela 2).

Tabela 2. Escore de lesões na bolsa de Fabrício em frangos de corte portadores de celulite (caso) e sem a enfermidade (controle).

GRUPOS	ESCORE DE LESÕES NA BOLSA DE FABRÍCIO(%)				TOTAL
	0	1	2	3	
CASO	0 (0/128)	1,56 (2/128)	8,59 (11/128)	42,96 (55/128)	53,125 (68/128)
CONTROLE	0,78 (1/128)	0,78 (1/128)	10,93 (14/128)	34,37 (44/128)	46,875 . (60/128)
TOTAL	0,78 (1/128)	2,34 (3/128)	19,53 (25/128)	77,34 (99/128)	100 (128/128)

Kruskal- Wallis , $p \leq 0,05$

Houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos caso e controle em relação aos graus de lesão de bolsa de Fabrício obtidos. Sendo o escore 3, o mais grave, presente em maior proporção nas aves do grupo caso.

Pela análise de regressão linear as idades das aves com celulite (grupo caso) previu em 3% o diâmetro da bolsa de Fabrício dessas aves ($R^2 = 0,0307$), o que não ocorreu no grupo controle. A relação entre idade e escore de lesão na bolsa foi inexistente em ambos os grupos.

5 DISCUSSÃO

Dependendo do grau de desenvolvimento e dos achados da lesão de celulite, a macroscópia foi uma importante ferramenta no diagnóstico desta lesão. Os resultados das análises macroscópicas do presente estudo foram muito semelhantes às descritas por Messier et al.(1993), Fallavena et al. (2000 a), Fallavena (2000b) e Andrade (2005). Na maioria dos casos foram encontradas placas fibrinosas no subcutâneo. Quando não estão presentes, o diagnóstico é mais difícil fato também relatado por Messier et al.(1993), Fallavena (2000b) e Silva e Mota (2003). Um estudo realizado por Messier et al. (1993) apresentou lesões geralmente localizadas na área cloacal, bem caracterizadas e definidas. No presente estudo a localização das lesões era na coxa, dorso e área cloacal.

A microscopia nestes casos foi muito semelhante à descrita por Peighambari et al (1995a), Fallavena (2000), Silva e Mota (2003). Já Messier et al (1993) encontraram em alguns casos ulceração focal na epiderme e presença de granulomas no tecido subcutâneo caracterizados por infiltrado fibrinocaseoso.

Segundo a Normativa nº 210 de 10/11/1998 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, qualquer órgão ou parte da carcaça que estiver afetado por um processo inflamatório deverá ser condenado e, se existir evidência de caráter sistêmico do problema, a carcaça e as vísceras na sua totalidade deverão ser condenadas. Neste contexto a celulite se encaixa como processo inflamatório, sendo na maioria dos casos causada por *E. coli*, fato também encontrado por Andrade (2005) e esses dados justificam o desvio das aves do grupo caso para julgamento e destino.

Bordin (2001) relatou que macroscopicamente a bolsa apresenta quadro de edema e aumento de tamanho quando afetadas pela DIB, alterações ausentes neste estudo.

A mensuração das bolsas, pelo bursômetro, no presente estudo, mostrou elevado percentual para os menores tamanhos (95,31%) nos grupos caso e controle, representado por 54 (42,18%) bolsas de tamanho três (10 mm de diâmetro) e 68 (53,12%) com tamanho quatro (13 mm de diâmetro). Dos 130 frangos aparentemente saudáveis, os dados do trabalho realizado por Pereira (2004) também indicaram que 80,76% dos casos eram representados por 44 (33,8%) bolsas de tamanho três (10 mm de diâmetro) e 61 (46,9%) com tamanho quatro (13 mm de diâmetro).

A imunodepressão foi associada por Simon e Ishizuka (2000), à ocorrência de outras enfermidades: dermatite gangrenosa, infecção por *E.coli* e falhas na vacinação.

Os resultados histológicos do presente estudo, onde foram observadas graves alterações foliculares do órgão, indicaram a possibilidade das aves terem apresentado variados quadros clínicos ligados a imunodepressão. Enfermidades tais como: coccidiose, aerossaculite e pericardite foram relacionadas à imunossupressão por Pereira (2004), que encontrou também severas alterações histológicas na bolsa. Em outro trabalho, Bernardino (2004) relatou que resultados de depleção no tecido linfóide sem alteração na sorologia no final do lote podem revelar outro fator imunossupressor que não a DIB, como micotoxinas, estresse, Marek, retrovírus, anemia.

Convém ressaltar que as alterações microscópicas referentes aos graus 2 e 3 deste estudo mostram características que levam a diminuição de volume da bolsa. Naturalmente que a maior intensidade quanto à gravidade das lesões, leva a um quadro de atrofia. Tendo em vista, que podem ocorrer concomitantemente àquelas alterações, edema e hiperplasia ou regeneração de folículos, a variação do tamanho da bolsa pode ocorrer, e assim em relação às medidas do bursômetro. Neste caso a bolsa com esta multiplicidade de alterações pode atingir graus 4 e 5 em tal aferição.

A histopatologia do presente estudo revelou que, a maioria (77,34%) dos frangos de corte analisados apresentaram escore de lesão 3 na bolsa de Fabrício,

sendo esta a lesão a mais severa, concordando com o estudo realizado por Pereira (2004), em que 44,61% apresentaram escore 3 de lesão no órgão.

Embora neste trabalho o VDIB não tenha sido identificado nas bolsas de Fabrício, a histopatologia revelou que no grupo controle, 34,37% dos frangos, e no grupo caso, 42,96% dos frangos, apresentaram escore 3 de lesão, sendo este o mais grave, observado em casos de DIB. Bordin (2001) observou que cepas virulentas, de campo ou não, podem lesionar todos os folículos, e nos casos mais agudos da doença os achados descritos por ele foram semelhantes ao encontrado neste trabalho.

Uma pesquisa realizada por Pereira et al. (2003) desenvolveu um escore para lesões histológicas admitindo que achados como: depleção e necrose linfóide, infiltração interfolicular de células inflamatórias, edema, hiperemia, áreas de hemorragia, hiperplasia epitelial com presença de cistos, fibroplasia e folículos císticos eram referentes a lesões compatíveis com o VDIB. No presente trabalho constatamos muitas destas lesões nas aves dos dois grupos.

Bolis et al. (2001) em sua pesquisa observaram que um grupo de aves com 28 a 42 dias de idade, do seu experimento, as quais não foram vacinadas, mas foram desafiadas (2050/97) apresentaram severas lesões nos folículos linfóides. As aves do presente estudo tinham idades entre 40 e 48 dias, e tinham sido vacinadas apenas no 14º dia de idade, via água de bebida, apresentaram lesões severas (lesões nos folículos linfóides), semelhantes as do estudo anterior, o que sugere uma falha no método de vacinação (nem todas as aves beberam a dose correta de vacina) ou na resposta vacinal. Simon e Ishizuka (2000) relatam que a imunidade transferida pela reprodutora aos pintinhos perdura por três semanas de vida dos mesmos. Sendo assim, as aves do presente estudo que foram vacinadas no 14º dia de vida ainda poderiam ter altos títulos de anticorpos maternos interferindo na ação do vírus da vacina, este fato também é ressaltado por Kreager (1994) e Lukert (1994). Bernardino (2001), e Cardoso e Pereira (2001), afirmaram que vacinando os frangos mais de uma vez, melhora-se a cobertura vacinal aumentando assim a possibilidade de que a vacinação não sofra a interferência dos AcM. No presente trabalho não houve a revacinação dos frangos.

6 CONCLUSÃO

- 1) Lesões amareladas em placas no subcutâneo de frangos de corte devem ser consideradas como celulite, e critério para correção do julgamento da carcaça.
- 2) Graves lesões na bolsa de Fabrício são associadas às provocadas pelo VDIB, descritas na literatura.
- 3) A celulite no grupo caso foi influenciada pelo diâmetro menor da bolsa de Fabrício.
- 4) A celulite no grupo caso foi favorecida pelas lesões mais graves (escore 3) na bolsa de Fabrício, em maior proporção, nas aves desse grupo.

7 OBRAS CITADAS

ABEF. Associação Brasileira dos Exportadores de Frango. As exportações de frango crescem 28%. Disponível em: <www.abef.com.br>. Acesso em 4 dez. 2004.

ANDERSON, W. I.; REID, W. M.; LUKERT, P. D.; Jr. FLETCHER, O. J. Influence of infectious Bursal Disease on the Development of Imumunity to *Eimeria tenella*. *Avian Diseases*, v. 21, n. 4, p. 637-641, 1977.

ANDRADE, C. L. *Histopatologia e Identificação da Escherichia coli como agente causal da celulite aviária em frangos de corte*. Niterói, 2005. 61f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói. 2005.

BERNARDINO, A. Controle da Doença de Gumboro – Proposta Fort Dodge. In: II SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 2001, Campinas. *Anais....Campinas: FACTA*, 2001, p. 143-156.

BERNARDINO, A. Programas de vacinações. In: MENDES, A.; Naas, I. A.; Mendes, A. A. *Produção de Frangos de Corte*, FACTA: Campinas, 2004, 356p., Cap 12, p. 179-203

BOLIS, D. A.; PAGANINI, F. J.; SIMON, V. A.; ZUANAZE, M. F.; SCANAVINI-NETO, H.; CORREA, A. R.; ITO, N. M. K. Gumboro Disease: Evaluation of serological and anatomopathological reponses in vaccinated broiler chickens challenged with very virulent vírus strain. *Revista brasileira de Ciência Avícola*, Campinas, n. 2, v. 5, maio/agosto, 2003, p.137-146.

BORDIN, E. L. Algumas Considerações Sobre Alterações Anatomopatologicas e Diagnóstico In: II SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 2001, Campinas. *Anais... Campinas: FACTA*, 2001. p. 74-77.

BRASIL. Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiêncio-sanitária de carne de aves.

CARDOSO, T. C.; SOUSA, R. L. M.; MONTASSIER, H. J.; PINTO, A. A. A Doublé antibody sandwich ELISA for rapid diagnosis of vírus infection and measure the humoral response against infectious bursal disease on clinical material. *Avian Pathology*, n. 27, p. 450-454, 1998.

CARDOSO, B. E.; PEREIRA, V. L. A. Controle da Doença de Gumboro – Proposta Lohmann. In: II SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 2001, Campinas. Anais...Campinas: FACTA, 2001, p. 141-142.

CARR, D.; SHAW, D.; HALVORSON, D. A.; RINGS, B.; ROEPKE, D. Excessive Mortality in market-age Turkeys Associated with Cellulitis. *Avian Diseases*, n. 40, p. 736-741, 1996.

- DE HERDT, P.; DUCATELLE, R.; UYTTEBROEK, E.; SEP, A.; TORBEYNS, R. Significance of Infectious Bursal disease Serology in a Integrated Quality Control Program Under European Epidemiologic Conditions, *Avian Diseases*, n. 44, p. 611-17, 2000.

DI FABIO, J. Diagnóstico Sorológico da Doença de Gumboro. In: II Simpósio da Doença de Gumboro, 2001, *Anais...* Campinas: FACTA, 2001. p. 78-91.

ELFADIL, A. A.; VAILLANCOURT, J. P.; MEEK, A. H. Farm Management Risk Factors Associated with Cellulitis in Broiler Chickens in Southern Ontario. *Avian Diseases*, n. 40, p. 699-706, 1996.

FALLAVENA, L. C. B. Enfermidades da Pele e das Penas. In: BERCHIERI JR.; MACARI, M. *Doença das aves*, FACTA: Campinas, 2000, 800p, Cap. 2, Item 2.3, p. 37 -42, 2000a.

FALLAVENA, L. C. B et al. Diagnosis of skin lesions in condemned or downgraded broiler carcasses – a microscopic and macroscopic study. *Avian Pathology*, n. 29, p. 557-562, 2000b.

FALLAVENA, L. C. B. Lesões Cutâneas em Frango de Corte: Causas, Diagnóstico e Controle. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. Anais...Campinas : FACTA, 2001, p. 205-216.

•
FALLAVENA, L. C. B. *Lesões cutâneas em Frangos de Corte*. Porto Alegre: Revista Sanidade Avícola, 2003. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/cet/1/04/index.shtm>. Acesso em 12 dez. 2003.

FALLAVENA, L. C. B. A Celulite nos Frangos de Corte. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/cet/1/04/index.shtm>. Acesso em: 6 ago. 2005a.

FALLAVENA, L. C. B. Lesões Cutâneas em Frangos de Corte: Etiologia. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. *Anais...* Campinas: FACTA, 2005b. 2 v. V. 1, p. 101-113.

•
 IKUTA, N. Diagnóstico Molecular do Vírus da Doença de Gumboro. In: II SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 2001, Campinas. *Anais...* Campinas: FACTA, 2001. p. 93-101.

- JACKWOOD, D. J.; JACKWOOD, R. J. IBDV: Molecular differentiation of antigenic subtypes among serotype 1 virus. *Avian Diseases*, n. 38, p. 531-537, 1994.

- JACKWOOD, D. J.; JACKWOOD, R. J. Molecular Identification of Infectious Bursal disease Virus Strain. *Avian Diseases*, n. 41, p. 97-104, 1997.

- JAENISCH, F. R. F. Biossegurança e Cuidados Sanitários para Frangos Disponível em: <http://www.avisite.com.br/cet/1/02/index.shtm>. Acesso em: 5 ago. 2005.

•
 KING, A. S. Sistema Linfático das Aves. In: GETTY, R. *Anatomia do Animais Domésticos de Sisson e Grossman*. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 1986, 2000 p. 2 v. V. 1, cap. 68, p. 1881-1889.

- KNOBLICH, H. V.; SOMMER, S. E.; JACKWOOD, D. J. Antibody Titers to infectious Bursal Disease Virus in Broiler Chicks After Vaccination at One Day of age with Infectious Bursal Disease Virus and Marek`s Disease Virus. *Avian Diseases*, n. 44, p.874-884, 2000.

•
 KOUWENHOVEN, B. Doença Infecciosa Bursal na Europa. In: SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 1993, Santos. *Anais...* Campinas: FACTA, 1993, p. 29-35.

KREAGER, K. ibd IN Egg-type Pullets. *World Poultry Special – Gumboro*, p. 19-20, dez. 1994.

KUMOR, L A et al. Cellulitis in Broiler Chickens: Epidemiological Trends, Meat Higiene, and Possible Human Health Implications. *Avian Diseases*, n.42, p. 285-291, 1998.

LEFFER, E. V. B.Considerações sobre o controle da doença de Gumboro. *Ave world*. São Paulo: Animal World , abr./mai. 2004. Número especial.

- LIN, Z.; KATO, A.; OTAKI, Y. Sequence Comparisons of a highly virulent IBDV prevalent in Japan. *Avia Diseases*, n. 37 p. 315-323, 1993.

•
 LUKERT, P. D.; SAIF, Y. M. Infectious Bursal disease. In: CALNEK et al. *Diseases of Poultry*. 9. ed. IOWA State University Press: Ames, 1991, 929p. Cap. 28, p. 648-663.

LUKERT, P. D. Conceitos para uma vacinação bem sucedida. In: SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 1993, Santos. *Anais...*Campinas: FACTA, 1993a, p. 50-56.

LUKERT, P. D. A doença de Gumboro nos EUA. In: SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 1993, Santos. *Anais...* Campinas: FACTA, 1993b, p.36-39.

LUKERT, P. D. Using live vaccines in the presence of maternal antibody. *World Poultry Special – Gumboro*, p. 12-13, dez. 1994.

MARTINS, N. R. S.; RESENDE, J. S., JORGE, M. A. Principais Causas de imunossupressão em Galinhas. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. *Anais...* Campinas: FACTA, 2005. p.79-94.

MENDES, A. Carne de frango saudável e nutritiva. Disponível em: <<http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=3037&tipo=tabela=negocios&categoria=marketing=2002>> Acesso em 2 de ago. 2005.

- MESSIER, S.; QUESSY, S.; ROBINSON, Y.; DEVRIESE, L. A.; HOMMEZ, J.; FAIRBROTHER, J. M. Focal Dermatitis and Cellulitis in Broiler Chickens: Bacteriological and pathological Findings. *Avian Diseases*, n. 37, p. 839-844, 1993

MONTASSIER, H. J. Doença de Gumboro: Imunologia. In: II SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 2001, Campinas. *Anais...* Campinas: FACTA, 2001. p. 37-45.

MUSKETT J. C.; HOPKINS L. G., EDWARDS K. R., THORNTON D. H. Comparison of two infectious bursal disease vaccine strains: Efficacy and potential hazards in susceptible and maternally immune birds. *The Veterinary Record*, n. 14:332-4, 1979.

NORTON, R. A.; MARCKLIN, K. S.; McMURTREY, B. L.; The association of various isolates of *Escherichia coli* from the United States with induced cellulitis and colibacillosis in young broiler chickens. *Avian Pathology*, n. 29, p. 571-574, 2000.

- ONDERKA, D. K.; HANSON, J. A.; McMILLAN, K. R.; ALLAN, B. *Escherichia coli* Associated Cellulites in Broilers: Correlation with Systemic Infection and microscopic Visceral Lesions, and Evaluation for skin Trimming. *Avian Diseases*, n. 41, p. 935-940, 1997.
- PASS, D. A. Integumentary System. In: RIDDELL, C. *Avian Histopathology*. 2. ed. American Association of Avian Pathology, 1996. Cap. 13, p. 219-229.

PEIGHAMBARI, S. M; VAILLANCOURT, J. P.; WILSON, R. A.; GYLES, C. L. Characteristics of *Escherichia coli* Isolates from Avian Cellulites. *Avian Diseases*, n. 39, p. 116-129, 1995a.

PEIGHAMBARI, S, M.; JULIAN, R. J.; VAILLANCOURT. J. P.; GYLES, C. L. *Escherichia coli* Cellulitis: Experimental Infections in Broiler Chickens. *Avian Diseases*, n. 39, p. 125-134, 1995b.

- PEREIRA, R.; ALLGAYER, M. C.; FALLAVENA, L. C. B.; MORAES, H. L. S.; FITTEL, A. P.; MOTTA, A. C.; SANTOS, L. R.; SALLE, C. T. P. Doença Infecciosa da Bursa (DIB) – Comparação entre Monitoria por

Exame Histopatológico e Bursometria. In: XI ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 2003, Botucatu. Anais... Botucatu: UNESP, 2003. p. 138.

PEREIRA, V. L. A. *Qualidade de frangos de corte ao abate pela relação entre peso, doença de gumboro e algumas enfermidades associadas*. Niterói, 2004. 75f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói. 2004.

-
- POPE, C. R. Lymphoid System. In: RIDDELL, C. *Avian Histopathology*. 2. ed. American Association of Avian Pathology, 1996. Cap. 2, p. 17-44.

ROSALES, A. G. Novas Perspectivas no controle de Doenças Virais: Enfermidade de Gumboro. In: CONFERÊNCIA APINCO 1999 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1999, Campinas. *Anais...* Campinas: FACTA, 1999, p. 67-72.

SANTOS FILHO, J. I.; TALAMINI, D. J. D.; CHIUCHETTA, O. A avicultura brasileira na virada do milênio. Embrapa suínos e aves. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/?/artigos/2000/artigo-2000-n039.html;ano=2000>. Acesso em 9 ago. 2004.

SILVA, E. N.; MOTA, M. P. Celulite em frangos de corte. Disponível em: <http://www.aveworld.com.br/usuario/gerencialnavegacao.php>. Acesso em 12 dez. 2003.

- SILVA, E.N. Efeito das doenças infecciosas na qualidade da carne de frango. In: CONFERENCIA APINCO 2004 DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2004, Santos. Anais... Campinas. FACTA, 2004, p.193-199.

SIMON, V.; ISHIZUKA, M. Doenças Virais – Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício – DIB. In: BERCHIERI JR.; MACARI, M. *Doença das aves*, FACTA: Campinas, 2000, 800p, Cap. 5, Item 5.5, p. 301 – 314, 2000.

STEWART-BROWN, B.; TRAMPEL, D. W. Quantitating lymphocyte depletion of thymus and bursa using an image processing technique. *Proceedings of western Poultry Disease Conference*, p. 105-107, 1990.

- THRUSFIELD MICHAEL. *Veterinary Epidemiology*. Second Edition. Blackwell Publishing, 483 p. 1995

TIZARD, I. A. Os órgãos do sistema imune. In: TIZARD, I A. *Imunologia veterinária*. 5. ed. São Paulo: Roca, 1998, 545p. Cap. 8, p. 79-97.

TREVIZOLI, J. F. Medidas profiláticas Gerais Contra a Doença de Gumboro. In: II SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 2001, Campinas. *Anais...* Campinas: FACTA, 2001, p.135-140.

UBA - União Brasileira de Avicultura. Avaliação da avicultura brasileira em 2004 e perspectivas para 2005. Disponível em: www.uba.org.br. Acesso em: 3 dez. 2004.

VAN DEN BERG, T.; ETERRADOSSI, N. Doença Infecciosa Bursal Aguda em Aves. In: II SIMPÓSIO DA DOENÇA DE GUMBORO, 2001, Campinas. *Anais...* Campinas: FACTA, 2001, p. 103-131.

VAN DEN BERG, T. Acute bursal disease in poultry: a review. *Avian Pathology*, n. 29, p. 571-574, 2000.