UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA ANEMIA INFECCIOSA DAS GALINHAS EM MATRIZES DE CORTE NA REGIÃO SUL DO BRASIL

AUTOR: Danilo José Ferreira

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Sanidade Avícola do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da UFRGS

Orientador: Dr. Cláudio Wageck Canal
Co-orientador: Dra. Vera Beatriz Wald

Porto Alegre
2002

A Ediene, minha esposa, pelo amor, carinho, companheirismo e compreensão.

A Rosni e Jeanete, meus pais, pelo estímulo e confiança.

A Ary e Eneide, sogro e sogra, pelo estímulo e carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal pela orientação deste trabalho.

A Prof. Dra. Vera Beatriz Wald pela coorientação deste trabalho

Ao Prof. Dr. Ari Bernardes da Silva, Prof. Ms. Hamilton Luiz de Souza Moraes e Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento, pela confiança e sugestões.

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle, pelo incentivo, sugestões e confiança.

Ao Ramão Lemos pela sua disponibilidade e paciência nas inúmeras correções ortográficas as quais foi solicitado.

A Rosecler Alves Pereira e Mariângela da Costa Algayer, pela amizade e companheirismo e incentivo.

À Associação Gaúcha de Avicultura, pela disponibilidade e agilidade que sempre demonstrou, ajudando em tudo que esteve a seu alcance.

Aos funcionários Sílvio Luiz Rocha, Omar Oliveira e Luiz Henrique Ribas, pela amizade e companheirismo dedicados durante a realização deste trabalho.

Aos estagiários e bolsistas do CDPA, Fernando Pilotto, Marisa Macagnan e Carla Rodenbusch, por estarem sempre disponíveis a ajudar.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS, pelo financiamento dos projetos ARD 98/1131-0 e 98/1786-0, que viabilizaram a execução desta dissertação.

A CAPES, pela bolsa de mestrado.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DANILO JOSÉ FERREIRA

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA ANEMIA INFECCIOSA DAS GALINHAS EM MATRIZES DE CORTE NA REGIÃO SUL DO BRASIL

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela Comissão formada pelos professores:

Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dra. Vera Beatriz Wald
Coorientadora

Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle
Membro da Banca

Prof. Dr. Luiz Cesar Bello Fallavena
Membro da Banca

Prof. Dr. Alberto Back
Membro da Banca

Porto Alegre, 22 de fevereiro de 2002.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS 6
LISTA DE FIGURAS 7
RESUMO 8
ABSTRACT *9*
1 INTRODUÇÃO 10
2 MATERIAL E MÉTODOS 15
3 RESULTADOS 17
4 DISCUSSÃO 27
5 CONCLUSÃO 34
6 BIBLIOGRAFIA 35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -Discriminação das fases de criação, idade e número de soros de matrizes analisados de cada empresa. 15
TABELA 2 - Discriminação do número de soros analisados de cada empresa nas diferentes fases de criação das matrizes não vacinadas. 18
TABELA 3 - Discriminação do número de soros analisados de cada empresa nas diferentes fases de criação das matrizes vacinadas. 19
TABELA 4 - Prevalência verdadeira (%), número de soros analisados e número de soros positivos para CAV em matrizes não vacinadas nas diferentes fases de criação. 20
TABELA 5 – Discriminação do número de aves soropositivas (+), total de aves analisadas do lote, percentagem de aves positivas (% de +), título médio (TM) e coeficiente de variação (CV) de cada lote não vacinado (Empresas 1 a 20) e vacinado (Empresas 21 a 23). 22
TABELA 6 – Percentagem e número de matrizes com títulos de anticorpos acima e abaixo de 5000 em matrizes não vacinadas e vacinadas. 24
TABELA 7 – Título médio de anticorpos dos lotes por fase de criação das matrizes não vacinadas e vacinadas. 25
TABELA 8 –Títulos de anticorpos médios do lote e coeficientes de variação (CV) dos títulos, nos lotes não vacinados no período de recria e com idade abaixo de 13 semanas. 26
TABELA 9 – Coeficiente de variação médio dos lotes nas diferentes fases de criação de matrizes não vacinadas e vacinadas. 26

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Prevalência verdadeira de lotes e de soros positivos para o CAV em matrizes não vacinadas..... 19
FIGURA 2 – Prevalência verdadeira de matrizes não vacinadas soropositivas para o CAV por fase de criação. 20
FIGURA 3 - Percentagem de matrizes pesadas não vacinadas e vacinadas com títulos de anticorpos acima e abaixo de 5000..... 25

RESUMO

O vírus da anemia infecciosa das galinhas (CAV, de “chicken anemia virus”), causa doença em aves jovens, caracterizada por anemia aplástica, atrofia linfóide generalizada e conseqüente imunodepressão. A doença clínica ocorre quando os pintos são infectados durante as duas primeiras semanas de vida e pode ser evitada se as reprodutoras passarem anticorpos em quantidade suficiente para sua progênie. Após as duas semanas de idade, as aves podem se infectar com o vírus, porém não desenvolverão a doença clínica. As matrizes infectadas durante o período de reprodução não demonstram sinais clínicos, nem alterações na postura, fertilidade dos ovos e viabilidade embrionária. Após algumas semanas, desenvolvem anticorpos que irão controlar a infecção e serão passados para o ovo, protegendo total ou parcialmente a progênie durante a fase de suscetibilidade a doença. O objetivo deste trabalho foi determinar o estado imune das matrizes, através da determinação da prevalência dos anticorpos em indivíduos e lotes de matrizes, determinar em que fase da criação as matrizes se infectaram e verificar se os títulos de anticorpos das matrizes eram suficientes para proteger a sua progênie. Fizeram parte deste estudo, 20 empresas da Região Sul do País (Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul), totalizando 64 lotes de matrizes não vacinadas e 12 lotes de matrizes vacinadas contra o CAV. Foram analisados 1709 soros através de um “kit” de ELISA indireto (KPL). A criação das matrizes foi dividida em quatro fases (Recria, 1ª, 2ª e 3ª fase de produção) para a coleta das amostras e constatou-se que todos os lotes de matrizes de corte não vacinados possuíam aves com anticorpos contra o CAV, 88,86% das matrizes foram soropositivas e 52,33% destas matrizes apresentaram títulos protetores para a progênie. Isto demonstrou que a maioria das aves se infectou durante a sua vida, entretanto, 47,67% das matrizes produziram uma progênie suscetível ou parcialmente protegida. A prevalência de matrizes não vacinadas soropositivas manteve-se constante a partir da fase de recria até o pico de produção, caindo no último terço da produção. Em todas as matrizes vacinadas foram encontrados anticorpos contra o CAV com títulos protetores para a progênie.

ABSTRACT

Chicken anemia virus (CAV) causes a disease in young chickens characterized by aplastic anemia, generalized lymphoid atrophy and concomitant immunosuppression. Clinical disease takes place when chicks are infected during the first two weeks of life and can be abrogated if the breeders transfer enough antibodies to their progeny. After two weeks of age, the chicks can be infected with the virus; however they will not develop the clinical disease. The breeders infected during the laying period do not demonstrate clinical signs, nor alterations in the layer, fertility and embryo viability. After some weeks, they develop antibodies that will control the infection and will be transferred through the egg, protecting totally or partially the progeny during the susceptible phase of life. The objective of the present work was to perform a serological survey to establish the prevalence of antibodies in commercial breeder flocks, to determine in which phase of the life the breeders were infected and to verify if the titer of antibodies were enough to protect their progeny. Twenty companies from Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul States (Brazil) participated in the serological survey, totaling 64 non-vaccinated commercial breeder flocks and 12 flocks vaccinated against CAV. The 1709 serum samples were analyzed with an indirect ELISA kit (KPL). In the four established phases (rearing period and three breeding phases) all non-vaccinated breeding flocks were infected by CAV, 88,86% of the individual sera possessed antibodies to CAV and 52,33% of them had a titer capable of protecting their progeny. This showed that most of the chickens were infected during their life, however, 47,67% of the individual breeders produced a susceptible or partially protected progeny. The prevalence of non-vaccinated breeders with antibodies was constant from the rearing to the breeding phase, falling in the last third of the laying period. All vaccinated breeders had antibodies to CAV with protecting titers for their progeny. From this data can be concluded that vaccination was an efficient means of producing CAV clinical disease protected chicks.

1 INTRODUÇÃO

A anemia infecciosa das galinhas é uma doença de origem viral que acomete principalmente aves jovens (Yuasa et al., 1979), caracterizada pela anemia aplástica, atrofia linfóide generalizada com imunodepressão concomitante. Em conseqüência disto, a anemia infecciosa das galinhas é freqüentemente complicada por infecções secundárias por vírus, bactérias e fungos. Este vírus está associado a diversas doenças multifatoriais como: a síndrome hemorrágica (Yuasa et al., 1987), síndrome da dermatite e anemia (Vielitz & Landgraf, 1988) e doença da asa azul (Engström & Luthman, 1984).

Anteriormente denominado "chicken anemia agent" (CAA), o vírus foi isolado por Yuasa et al. (1979) no Japão e mais tarde, com a caracterização morfológica e bioquímica (Gelderblom et al., 1989; McNulty et al., 1990; Todd et al., 1990a), ele foi denominado de vírus da anemia das galinhas (chicken anemia vírus - CAV) (Gelderblom et al., 1989; Noteborn et al., 1991).

Em seus estudos, Yuasa, (1983) descobriu que o CAV não replicava em cultivos de células convencionais. Este vírus possui citopatogenicidade para linhagens de células linfoblastóides de galinhas, as chamadas células MDCC-MSB1 (MSB1). Esta descoberta permitiu que fosse dada preferência à realização de testes *in vitro* com o uso da Vírus Neutralização (VN) em relação aos testes realizados *in vivo* (Yuasa et al., 1979), facilitando a execução de estudos virológicos mais extensos. Além do mais, o uso das células MSB1 tornou possível a detecção dos anticorpos anti-CAV no soro das galinhas ou na gema dos ovos pelo teste de Imunofluorescência Indireta (IFA) (Bülow et al., 1985, Yuasa et al., 1985), além de permitir a purificação do vírus do sobrenadante dos cultivos infectados com o CAV (Goryo et al., 1987; Gelderblom et al., 1989).

O vírus da anemia infecciosa das galinhas tem sido isolado de casos sugestivos da doença em criações de galinhas com idade entre 2 e 4 semanas (Bülow & Witt, 1986; Bulow et al., 1986). Nas aves infectadas, o crescimento é retardado e a mortalidade fica geralmente entre 10 e 20%, podendo ocasionalmente chegar a 60%,

gerando grandes perdas econômicas principalmente nas empresas de criações de frango de corte (McLlroy et al., 1992).

A síndrome da anemia aplástica já foi descrita muitos anos antes do CAV ter sido detectado. A sua possível associação etiológica com o CAV foi revista e discutida em alguns artigos científicos relacionados à anemia infecciosa das galinhas (Yuasa et al., 1987; Goryo et al., 1989; McNulty, 1991; Bülow, 1991).

O CAV ocorre em todos os paises maiores produtores de frango do mundo. Ele tem sido isolado de galinhas no Japão (Goryo et al., 1985; Yuasa & Imai, 1986; Otaki et al., 1987; Yuasa et al., 1987), Europa (Bülow et al., 1983; Bulow et al., 1986; Engström, 1988; Chettle et al., 1989; Noteborn et al., 1991; Drouin et al., 1992; Farkas et al., 1992; Hoop et al., 1992), Irlanda do Norte (McNulty et al., 1990), Estados Unidos (Goodwin et al., 1989; Rosenberger & Cloud, 1989; Lucio et al., 1990), América do Sul (Brentano et al., 1991; Buscaglia et al., 1994; Toro et al., 1994), China (Li et al., 1994), Áustria (Firth & Imai, 1990; Connor et al., 1991), Nova Zelândia (Stanislawek & Howell, 1994) e África do Sul (Wicht & Maharaj, 1993).

A presença de anticorpos contra o CAV tem sido encontrada somente em soros de galinhas (Yuasa et al., 1985) e codornas japonesas (Farkas et al., 1998). Entretanto, as galinhas são o único hospedeiro do qual se isolou o vírus. Anticorpos contra o CAV não foram detectados em perus ou patos mesmo após a inoculação de altas doses do vírus (McNulty et al., 1991), sendo as galinhas domésticas consideradas como os hospedeiros naturais do CAV.

O CAV é um vírus pequeno, não envelopado, com uma fita única e circular de DNA (Todd et al., 1991a), pertencente à família C*ircoviridae* (Murphy, 1996). A presença de membros desta família têm sido relatada em outras espécies animais, tais como o vírus da doença do bico e da pena dos psitacídeos, o circovírus dos suínos (Todd et al., 1991) e o circovírus dos pingüins (Woods et al., 1993; Shivaprasad et al., 1994).

O CAV possui um diâmetro de 25 a 26,5 nm e o seu genoma contém aproximadamente 2300 nucleotídeos que codificam três proteínas: VP1, que forma o capsídeo, e que junto com a VP2, gera imunidade protetora, e a VP3, chamada de

apoptina, por induzir a apoptose nos timócitos e linfócitos de linhagens celulares de galinhas (Noteborn et al., 1994).

O genoma da cepa Cux-1 foi determinado e apresenta 2298 ou 2319 pb, dependendo da presença ou ausência de quatro ou cinco seqüências repetidas de 21 pb (Noteborn et al., 1991). Algumas cepas de CAV têm quatro seqüências repetidas de 12 pb inseridas no meio do genoma. Após 30 passagens em cultivo de células MDCC-MSB1, Todd et al. (1995) reportaram a presença de 50 repetições na cepa Cux-1.

O CAV é um vírus altamente resistente a solventes orgânicos e a temperaturas elevadas. A fumigação com formol, usada em larga escala em empresas avícolas, não tem capacidade de inativá-lo completamente, permitindo que o vírus persista por longo tempo nas instalações. Os desinfetantes à base de glutaraldeído 1% e a base de formol 5%, bastante usados em instalações avícolas em nosso país são capazes de inativar o CAV quando expostos por 24 h em temperatura ambiente (Yuasa, 1992).

O vírus da anemia das galinhas pode ser transmitido verticalmente, sendo essa a forma considerada a mais importante para a transmissão do vírus, que ocorre através dos ovos de matrizes recentemente infectadas e sem anticorpos. A transmissão horizontal ocorre de aves infectadas para aves suscetíveis, ou seja, aquelas que não possuem anticorpos produzidos de forma ativa ou adquiridos passivamente. Hoop et al. (1992) demonstraram que o CAV é eliminado através da excreta, contaminando os ovos incubáveis no momento da postura. O período de transmissão vertical pode ocorrer por três a seis semanas, podendo chegar até 12 semanas.

As aves de todas as idades são suscetíveis à infecção através da ingestão ou inalação do vírus, mas somente pintos sem proteção por anticorpos maternos desenvolvem a doença (McNulty et al., 1988; McNulty et al., 1991). Os frangos do primeiro dia até duas semanas de idade são mais suscetíveis à infecção e desenvolvem a doença entre duas e cinco semanas (Yuasa et al., 1979; Yuasa et al., 1980). Em aves contaminadas com mais de duas semanas de vida, o vírus causará uma doença sub-clínica.

Tanto a infecção clínica quanto à sub-clínica provocam perdas econômicas. Estas são expressas, quando sob a forma da doença clínica aguda, pelo aparecimento de aves deprimidas, anoréxicas, com a crista e barbelas pálidas e penas arrepiadas. Em infecções subclínicas, a baixa conversão alimentar e a imunodepressão das aves infectadas são os principais fatores que levam a estas perdas (McNulty et al., 1991; McLlroy et al., 1992).

A resposta humoral à infecção pelo CAV é retardada em aves com menos de duas semanas de idade, tanto no título de anticorpos quanto no tempo. Os anticorpos maternos provêem proteção completa (Yuasa et al., 1980), desde que os pintos não estejam imuno-deprimidos por outros fatores (Bülow et al., 1986). A monitoria sorológica para o CAV é importante, principalmente para assegurar que as matrizes entrarão em produção com anticorpos contra o vírus. Dessa forma, o risco da doença clínica na progênie é evitado (Todd et al., 1999).

O diagnóstico da infecção pelo CAV é feito através do isolamento do vírus, ou ainda pela detecção de anticorpos. A detecção de anticorpos pode ser feita através de testes de soro neutralização (Bülow et al., 1985; Jorgensen, 1990) e de imunofluorescência indireta (Bülow et al., 1985; Yuasa et al., 1985). No entanto, a necessidade da contínua passagem do vírus em cultivo celular e a dificuldade na interpretação dos resultados, torna estes testes muito trabalhosos para serem utilizados em amplos estudos sorológicos (Bülow et al., 1985).

Para prevenir perdas econômicas na indústria avícola devido às infecções pelo CAV, o estado imunitário das matrizes deve ser monitorado antes do começo do período de produção através de testes sorológicos confiáveis. Devido à possibilidade de automação do ELISA, algumas avaliações foram desenvolvidas e apresentaram uma boa correlação com os testes padrões de IFA e VN (Todd et al., 1990b; Lamichhane et al., 1992; Goodwin et al., 1992).

Em virtude da importância de saber se as matrizes possuem anticorpos durante a produção, buscou-se neste trabalho detectar anticorpos contra o CAV em soros de matrizes vacinadas ou não, alojadas na Região Sul do Brasil, utilizando a técnica de ELISA. Para isto, procurou-se:

(a) Estabelecer a prevalência de indivíduos e lotes de matrizes infectados pelo CAV.

(b) Determinar em qual fase da criação as matrizes foram infectadas.

(c) Estabelecer o coeficiente de variação dos títulos de anticorpos dos lotes de matrizes.

(d) Verificar qual a percentagem de matrizes que possui títulos de anticorpos suficientes para proteger a progênie.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de soro foram coletadas de matrizes selecionadas ao acaso dentro dos lotes, pelos técnicos das empresas, e enviados ao CDPA/UFRGS, onde foram mantidos a –20°C até o processamento. O período de coleta foi de abril de 2000 até fevereiro de 2001, sendo analisadas amostras procedentes de lotes de matrizes pesadas provenientes de 23 empresas sediadas nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.

Para determinar em que fase da vida das aves estava ocorrendo à infecção pelo CAV, cada empresa remeteu os soros provenientes de 4 lotes (Tabela 1). Desta forma, foi analisado um lote de cada uma das seguintes fases de criação: Fase de recria, 1ª, 2ª e 3ª Fase de produção.

Os soros foram analisados para a presença de anticorpos contra o CAV através de um " kit" de ELISA indireto, Chicken Anemia Virus Antibody Test Kit, catálogo número 54-80-01 (Kirkegaard & Perry Laboratories – KPL). A densidade ótica foi determinada a 405 nm numa leitora de ELISA Bio-TEK ELX 800. A interpretação das densidades ópticas foi realizada utilizando-se o programa Profile for Windows 1. 07. 10 (KPL). Determinou-se o caráter (positivo ou negativo), o título de anticorpos e o coeficiente de variação dos soros por lote.

TABELA 1 -Discriminação das fases de criação, idade e número de soros de matrizes analisados de cada empresa.

Fase de criação	Idade em semanas	Nº de soros
Cria – Recria	06-21	22
1ª Fase de produção	22-35	22
2ª Fase de produção	36-45	23
3ª Fase de produção	46-55	23

A sensibilidade (100%), especificidade (96,66%), valor preditivo positivo (99,58%) e valor preditivo negativo (100%) do “kit” foram determinados através do Programa Win Episcope 2.0 (Blas et al., 1998), utilizando-se os resultados de

correlação deste ELISA com os do teste de Vírus Neutralização fornecidos pela KPL (Kirkegaard, 1997).

O cálculo do número de amostras para a determinação da prevalência foi realizado em duas etapas, utilizando o Programa Win Episcope 2.0 (Blas et al., 1998). Primeiramente, foi determinado o número de lotes a serem analisados e, a seguir, o número de soros por lote.

O número de lotes de matrizes foi determinado utilizando-se os seguintes parâmetros: população de 15.205.000 matrizes na Região Sul (UBA, 2001), prevalência de 90%, baseado em dados da alta prevalência do vírus em outros países, nível de confiança de 99% e erro aceitável de 10%. Os lotes foram considerados positivos quando apresentaram pelo menos uma ave positiva.

O número de soros por lote foi determinado utilizando-se como parâmetros uma prevalência de 88,9% dos soros positivos (Brentano et al., 2000), nível de confiança de 90%, número médio estimado de 5000 matrizes por lote e erro aceitável de 12%.

O número de soros positivos dentro de cada lote foi transformado para percentagem, a qual foi denominada de prevalência aparente (Pereira, 2000). Esta foi transformada em prevalência verdadeira utilizando-se os valores de sensibilidade e especificidade, através do Programa Win Episcope 2. 0 (Blas et al., 1998).

Análises de qui-quadrado foram feitas para determinar se existia diferença significativa no percentual de aves soropositivas nas diferentes fases de criação.

Os soros de matrizes vacinadas foram analisados separadamente para permitir uma comparação dos resultados obtidos das matrizes expostas à infecção natural.

A percentagem de matrizes com títulos de anticorpos maiores que 5000 foi determinada para verificar o percentual de matrizes que era capaz de oferecer proteção completa para a progênie contra a infecção clínica pelo CAV (Kirkegaard, 1997).

3 RESULTADOS

A determinação do número de lotes a serem analisados resultou em 60, número que foi aumentado para 64 lotes de matrizes de corte não vacinadas e 12 lotes de aves vacinadas (Tabela 2). O número de soros por lote foi calculado em 19, entretanto, com a finalidade de obter um resultado mais exato e melhorar o aproveitamento das placas do “kit”, foram analisados 22 soros para cada um dos dois primeiros períodos de criação e 23 soros para cada um dos dois últimos períodos de criação, totalizando 90 amostras analisadas por empresa em uma placa de Elisa do "kit" (Tabela 1). Foram analisados 374 soros da Fase de recria, 308 soros da 1ª Fase de produção, 360 soros da 2ª Fase de produção e 397 soros da 3ª Fase de produção dos lotes não vacinados, perfazendo um total de 1439 soros de matrizes não vacinadas (Tabela 2). O fato de que foi analisado um número diferente de soros de cada fase de criação, ocorreu devido a algumas empresas terem remetido os soros de mais de um lote de uma determinada fase e de nenhum lote de outra. Desta forma, algumas empresas tiveram dois lotes analisados que pertenciam a uma mesma fase de criação e nenhum de alguma das outras fases.

TABELA 2 - Discriminação do número de soros analisados de cada empresa nas diferentes fases de criação das matrizes não vacinadas.

Empresa	Recria	1ª Fase	2ª Fase	3ª Fase
1	23	22	22	22
2	22	22	23	23
3	00	25	00	25
4	22/22	00	23	23
5	00	00	20	20
8	22	22	23	23
9	22	22	00	23/23
10	22	22	23	23
11	22	22	23	23
13	22	22	23	23
14	22	22	23	23
15	22	22	23	23
16	23	22	22/23	00
17	20	19	20	31
18	22/22	00	23	23
19	22	22	23	23
20	22	22	23	23
Total não vacinadas	374	308	360	397

Dos 12 lotes de matrizes vacinadas, foram testados 66 soros da Fase de recria, 66 soros da 1ª Fase de produção, 69 soros da 2ª Fase de produção e 69 soros da 3ª Fase de produção, totalizando 270 soros (Tabela 3).

TABELA 3 - Discriminação do número de soros analisados de cada empresa nas diferentes fases de criação das matrizes vacinadas.

Empresa	Recria	1ª Fase	2ª Fase	3ª Fase
21	22	22	23	23
22	22	22	23	23
23	22	22	23	23
Total vacinadas	66	66	69	69

Os resultados do Elisa demonstraram que todos os lotes de matrizes tinham algumas aves positivas, sendo que o percentual de indivíduos positivos nos lotes foi de 39,13% até 100%. A prevalência aparente dos soros positivos em matrizes não vacinadas foi de 89,23% e a prevalência verdadeira de 88,86% (Figura 1). Já nas matrizes vacinadas, todas as aves possuíam anticorpos contra o CAV.

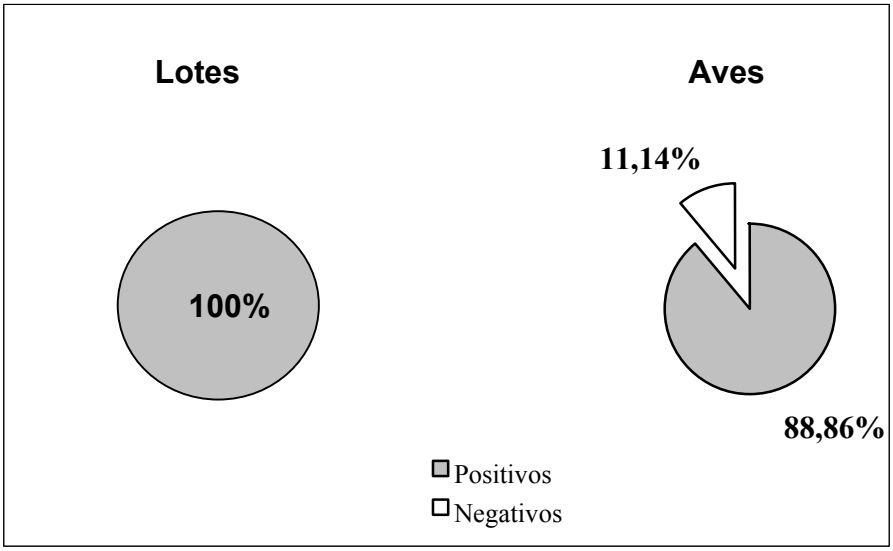

FIGURA 1 – Prevalência verdadeira de lotes e de soros positivos para o CAV em matrizes não vacinadas.

Como pode ser visto na Figura 2 e na Tabela 4, a prevalência de matrizes não vacinadas e positivas para o CAV variou de 91,95% na segunda Fase de produção até 83,5% na última fase de criação.

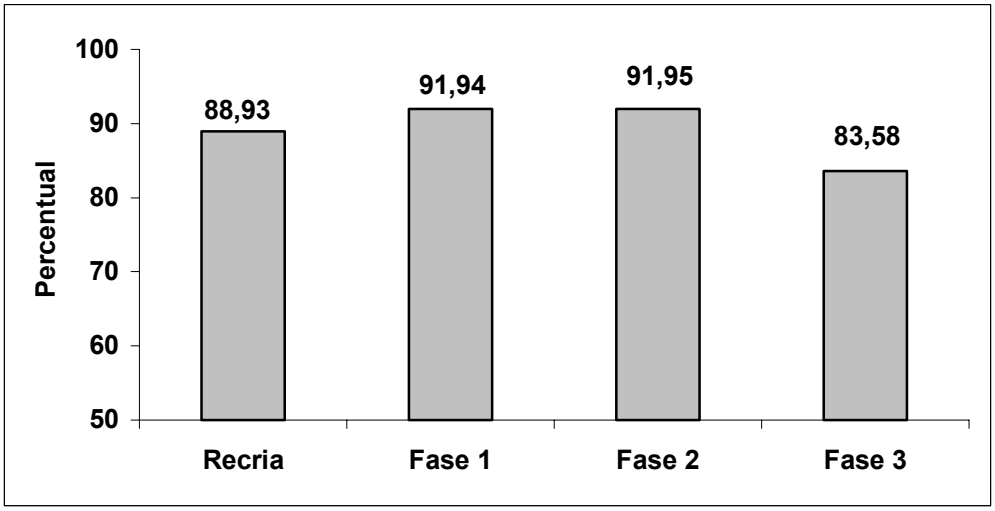

FIGURA 2 – Prevalência verdadeira de matrizes não vacinadas soropositivas para o CAV por fase de criação.

A análise do qui-quadrado demonstrou que havia uma diferença significativa (p=0,001) na percentagem de aves soronegativas na 3ª fase em relação às demais fases. Foram analisados 20 lotes da Fase de recria, onde 45% dos lotes tiveram pelo menos uma ave soronegativa. Na 1ª Fase de produção, foram analisados 17 lotes e em 35,29% deles lotes foram encontradas aves soronegativas. Na 2ª Fase de produção foram analisados 19 lotes e em 52,63% dos lotes foram encontradas aves soronegativas. Na 3ª Fase de produção, dos 20 lotes analisados, 50% possuíam aves soronegativas.

TABELA 4 - Prevalência verdadeira (%), número de soros analisados e número de soros positivos para CAV em matrizes não vacinadas nas diferentes fases de criação.

Fases de criação	Número de soros	Número positivos	Prevalência (%)
Recria	374	334	88,93
1º Fase	308	284	91,94
2º Fase	360	332	91,95
3º Fase	397	334	83,58
Total	1439	1284	88,86

Em 54,68% dos lotes haviam matrizes soropositivas com outras soronegativas dentro do mesmo lote (Tabela 5). Já nos lotes de matrizes vacinadas (lotes das Empresas 21, 22, 23), todos os soros foram positivos.

Ao analisar-se isoladamente cada lote das empresas participantes (Tabela 5), verificou-se que o lote que apresentava o menor número de aves soropositivas (39,13%) estava na 3º Fase de produção, em contraste ao encontrado em lotes de outras empresas que possuíam 100% das aves soropositivas.

Os valores de percentagem de positivos, títulos médios e coeficiente de variação estão discriminados por lote e empresa na Tabela 5, que apresenta todos os lotes não vacinados (Empresas 1 a 20) e vacinados (Empresas 21 a 23).

Quando se volta a atenção para as aves não vacinadas, verifica-se que o título médio de anticorpos dentro de cada lote nas diferentes fases de criação variou de 1.483 em um lote que estava na 3º Fase de produção até 23.243 em um lote que estava na Fase de recria (Tabela 5).

Nos lotes não vacinados (Tabela 5), verifica-se que o CV foi normalmente maior do que o obtido em matrizes vacinadas, variando de 44,12% a 141,84%. Contudo, 11 (17,18%) lotes de matrizes não vacinadas possuíam um CV (31,23% a 42,10%) dentro dos mesmos limites encontrados nas matrizes vacinadas (21,57% a 43,64%), embora os seus títulos médios de anticorpos variassem de 3130 até 18614 (Tabela 5).

TABELA 5 – Discriminação do número de aves soropositivas (+), total de aves analisadas do lote, percentagem de aves positivas (% de +), título médio (TM) e coeficiente de variação (CV) de cada lote não vacinado (Empresas 1 a 20) e vacinado (Empresas 21 a 23).

Empresas	Fases	+	Total de aves	% de +	TM	CV (%)
1	RECRIA	19	23	82,61	4203	65,74
1	1ª FASE	19	22	86,36	3196	64,98
1	2ª FASE	19	22	86,36	3588	51,36
1	3ª FASE	19	22	86,36	3196	51,75
2	RECRIA	22	22	100,00	9855	48,30
2	1ª FASE	22	22	100,00	12835	38,65
2	2ª FASE	22	23	95,65	13425	38,61
2	3ª FASE	23	23	100,00	12186	38,08
3	1ª FASE	25	25	100,00	6943	46,47
3	3ª FASE	25	25	100,00	9574	31,23
4	RECRIA	22	22	100,00	5723	53,90
4	RECRIA	21	22	95,45	5856	58,41
4	2ª FASE	21	23	91,30	4515	66. 10
4	3ª FASE	14	23	60,87	1685	54,75
5	2ª FASE	20	20	100,00	9478	35,43
5	3ª FASE	20	20	100,00	8987	31,33
8	RECRIA	22	22	100,00	18267	51,13
8	1ª FASE	22	22	100,00	17705	42,10
8	2ª FASE	23	23	100,00	21099	47,69
8	3ª FASE	23	23	100,00	18614	39,87
9	RECRIA	10	22	45,45	3595	126,07
9	1ª FASE	22	22	100,00	7012	59,75
9	3ª FASE	9	23	39,13	1483	120,56
9	3ª FASE	16	23	69,57	3005	74,23
10	RECRIA	22	22	100,00	23243	49,86
10	1ª FASE	19	22	86,36	8356	91,94
10	2ª FASE	22	23	95,65	10696	59,62
10	3ª FASE	21	23	91,30	9213	92,10

Continuação...

11	RECRIA	17	22	77,27	3503	84,01
11	1ª FASE	15	22	68,18	2934	118,03
11	2ª FASE	16	23	69,57	3016	87,84
11	3ª FASE	18	23	78,26	2465	75,91
13	RECRIA	22	22	100,00	9233	56,91
13	1ª FASE	22	22	100,00	9256	50,43
13	2ª FASE	22	23	95,65	7477	67,60
13	3ª FASE	21	23	91,30	3884	61,61
14	RECRIA	16	22	72,73	6029	109,16
14	1ª FASE	20	22	90,91	3930	63,80
14	2ª FASE	20	23	86,96	4705	80,19
14	3ª FASE	22	23	95,65	7277	73,97
15	RECRIA	14	22	63,64	3327	102,93
15	1ª FASE	16	22	72,73	2978	74,96
15	2ª FASE	18	23	78,26	3343	72,47
15	3ª FASE	18	23	78,26	3798	85,39
16	RECRIA	21	23	91,30	8022	73,48
16	1ª FASE	22	22	100,00	19902	53,11
16	2ª FASE	19	22	86,36	8796	75,66
16	2ª FASE	23	23	100,00	11588	49,20
17	RECRIA	20	20	100,00	7654	49,37
17	1ª FASE	16	19	84,21	5927	98,71
17	2ª FASE	20	20	100,00	9489	46,34
17	3ª FASE	16	31	51,61	2981	141,84
18	RECRIA	21	22	95,45	4761	57,92
18	RECRIA	22	22	100,00	4572	34,37
18	2ª FASE	23	23	100,00	10540	47,95
18	3ª FASE	23	23	100,00	13181	51,52
19	RECRIA	21	22	95,45	3130	35,44
19	1ª FASE	22	22	100,00	4366	44,51
19	2ª FASE	21	23	91,30	3193	44,12
19	3ª FASE	23	23	100,00	4936	46,50

Continuação. . .

20	RECRIA	22	22	100,00	3459	35,95
20	1ª FASE	22	22	100,00	4034	44,96
20	2ª FASE	23	23	100,00	4510	58,88
20	3ª FASE	23	23	100,00	5931	69,10
21	RECRIA	22	22	100,00	13792	21,57
21	1ª FASE	22	22	100,00	16022	40,66
21	2ª FASE	23	23	100,00	10951	37,69
21	3ª FASE	23	23	100,00	13856	32,18
22	RECRIA	22	22	100,00	25848	24,59
22	1ª FASE	22	22	100,00	24085	22,41
22	2ª FASE	23	23	100,00	21783	27,83
22	3ª FASE	23	23	100,00	21111	26,49
23	RECRIA	22	22	100,00	13118	28,36
23	1ª FASE	22	22	100,00	12293	31,43
23	2ª FASE	23	23	100,00	14069	43,64
23	3ª FASE	23	23	100,00	13099	30,97

No presente trabalho, 52,33% dos soros apresentaram títulos superiores a 5000 nas matrizes não vacinadas. Desta maneira, 47,67% da progênie destas matrizes ainda estariam parcialmente suscetíveis à infecção (Tabela 6 e Figura 3). Já nas matrizes vacinadas, 99% das aves analisadas apresentaram títulos de anticorpos acima de 5000. As duas aves que estão dentro do 1% com títulos menores que 5000, pertenciam a 2º Fase de produção e possuíam títulos de anticorpos acima de 4000 (Tabela 6 e Figura 3).

TABELA 6 – Percentagem e número de matrizes com títulos de anticorpos acima e abaixo de 5000 em matrizes não vacinadas e vacinadas.

CAV	Não Vacinadas	Vacinadas
Títulos de anticorpos < 5000	47,67% (686)	1,00% (2)
Títulos de anticorpos > 5000	52,33% (753)	99,00% (268)
Total	100,00% (1439)	100% (270)

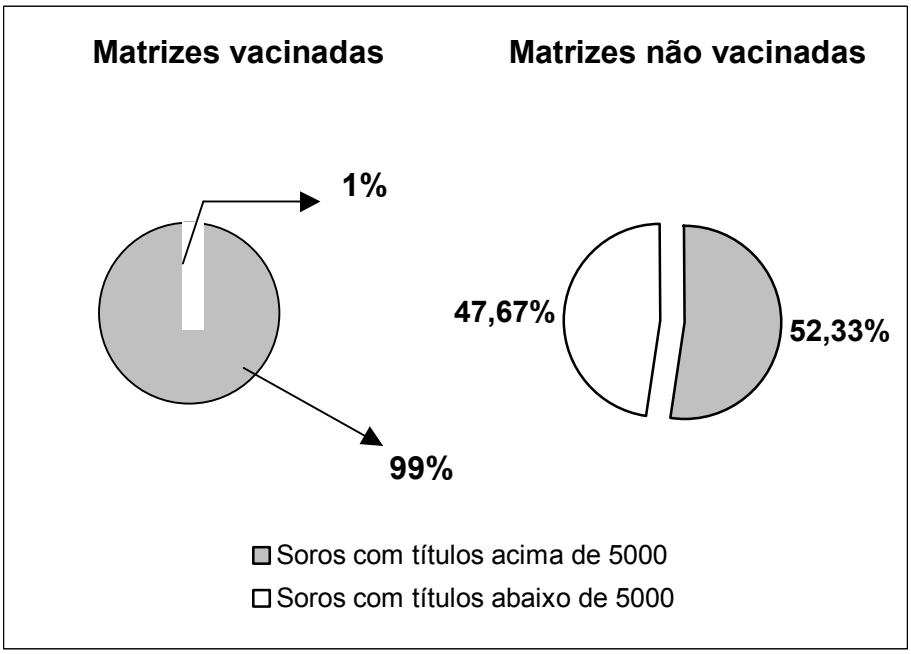

FIGURA 3 - Percentagem de matrizes pesadas não vacinadas e vacinadas com títulos de anticorpos acima e abaixo de 5000.

Nas aves não vacinadas, verificou-se que o título médio de anticorpos dos lotes por fase de criação se mantém sempre acima de 5000 (Tabela 7). Nas matrizes vacinadas, o mesmo pode ser visto, embora os títulos de anticorpos alcançados fossem maiores que o dobro dos títulos das aves não vacinadas.

TABELA 7 – Título médio de anticorpos dos lotes por fase de criação das matrizes não vacinadas e vacinadas.

Fase de criação	Não vacinadas	Vacinadas
Recria	7.653	17.586
1º Fase	7.638	17.467
2º Fase	7.321	15.601
3º Fase	7.185	16.022
Média Geral	7.449	16.669

Quando analisamos os títulos de anticorpos médios dos lotes de matrizes no período de recria que estão com idade abaixo de 13 semanas (TABELA 8), observa-

se que quatro dos seis lotes possuíam títulos de anticorpos considerados protetores para sua progênie. Como exemplo, o lote com oito semanas de idade já possuía um título médio de anticorpos 5.723, apesar de não ter sido vacinado. Contudo, se verificarmos os títulos individuais neste lote, vemos que 10 das 22 aves têm títulos inferiores a 5.000.

TABELA 8 –Títulos de anticorpos médios do lote e coeficientes de variação (CV) dos títulos, nos lotes não vacinados no período de recria e com idade abaixo de 13 semanas.

Empresa	Idade/Semana.	CV	Média dos títulos do lote
2	13	48,30	9855
4	8	58,41	5723
8	12	51,13	18267
9	12	126,07	3595
13	13	56,91	9233
18	13	57,92	4761
19	12	35,44	3130

Em relação aos coeficientes de variação médios por fase de criação (Tabela 9) dos lotes não vacinados, verifica-se que o CV é maior em relação aos obtidos nas matrizes vacinadas.

TABELA 9 – Coeficiente de variação médio dos lotes nas diferentes fases de criação de matrizes não vacinadas e vacinadas.

Fases da Criação	CV não vacinadas	CV vacinadas
Recria	63,06	24,84
1ª Fase	54,61	31,50
2ª Fase	57,59	36,38
3ª Fase	65,39	29,88

4 DISCUSSÃO

Este trabalho teve como objetivo geral, verificar qual o grau de proteção que a progênie de matrizes de corte possui na idade em que é suscetível a infecção pelo vírus da anemia das galinhas (CAV) que poderá gerar a doença clínica. Para isto, procurou-se determinar a prevalência de indivíduos e lotes de matrizes vacinadas e não vacinadas com anticorpos contra o CAV.

Antes da execução deste trabalho, procurou-se determinar a quantidade de lotes e soros que eram significativamente representativos da população de matrizes de frango de corte dos três Estados. Esta determinação foi embasada em procedimentos epidemiológicos e feita com o auxílio de programas de computador específicos para este fim. Desta forma, os resultados gerados foram mais próximos da realidade observada no campo. Este procedimento não pode ser visto em nenhum dos trabalhos científicos relacionados ao tema revisados para esta discussão.

Todos os lotes analisados possuíam aves com anticorpos contra o CAV no presente trabalho, demonstrando que a infecção pelo vírus ocorre na criação de matrizes nas condições comerciais normalmente utilizadas pelas empresas avícolas, tendo sido encontrada uma prevalência verdadeira de 88,86% em matrizes não vacinadas e com idade que variava entre 8 a 60 semanas.

Nos Estados Unidos, anticorpos contra o CAV foram encontrados em 23 lotes de 29 testados para anticorpos contra a cepa Cux-1 usando o teste de imunofluorescência indireta em criações de galinhas comerciais e em reprodutoras com idade entre 10 e 78 semanas (Lucio et al. 1990). Foi determinada uma prevalência aparente de 79,31% de aves com anticorpos contra o CAV em doze estados amostrados do Estados Unidos da América. Também no mesmo trabalho, Lucio et al. (1990) isolaram um agente com as características antigênicas, físicoquímicas e patológicas do CAV a partir de frangos de corte.

A prevalência de anticorpos contra o CAV foi determinada em matrizes pesadas usando 52 lotes de três estados do Estados Unidos da América (Goodwin et al., 1990). Os resultados indicaram uma prevalência de 98% para os lotes e 62% para as 861 aves examinadas. A presença de aves positivas dentro dos lotes variou de zero

a 100%. Os testes para detecção dos anticorpos foram feitos através da imunofluorescência indireta. Ao contrário do presente trabalho, em que foi encontrado um menor número de aves soropositivas na 3ª Fase de produção, os autores encontraram uma proporção significativamente menor de aves soropositivas nas matrizes com menos de dezenove semanas.

Da mesma forma como encontrado no presente trabalho, Drén et al. (1996) reportaram uma prevalência de 100% de lotes com anticorpos contra o CAV em matrizes de frango de corte não vacinadas na Hungria. A percentagem de aves soropositivas dentro dos lotes foi de 40 a 93,3%, com uma média de 73,2%, usando o teste de imunofluorescência indireta. Este teste forneceu os resultados em somente um dia e tem a vantagem de ter um custo baixo, quando comparado com o teste de soro neutralização, porém um dos maiores problemas encontrados foi o fato de ele não detectar títulos baixos de anticorpos (Chettle et al., 1991).

Em um estudo realizado na Espanha, envolvendo 187 lotes de matrizes de frango de corte, foi encontrada uma prevalência de 25,47% de aves soronegativas nos 2754 soros analisados. Os soros foram coletados durante o período de 1995 a 1996 de matrizes com idade entre 6 a 60 semanas de vida (Solsona, 1996). Em nosso trabalho, das 1.439 aves analisadas que eram expostas à infecção natural, 10,77% eram soronegativas.

Na China, em um estudo de prevalência de anticorpos contra o CAV usando imunofluorescência indireta, foi encontrada uma prevalência aparente de 82,14% nos lotes (23 positivos de 28 analisados) e 42% nos soros (79 positivos de 185 analisados) em criações de matrizes e frangos de corte (Zhou et al., 1996). Já no presente trabalho, foi encontrada uma prevalência de 100% para os 64 lotes expostos à infecção natural.

No Japão, foi determinada uma prevalência aparente de anticorpos contra o CAV de 60,2% em 211 aves e de 69,2% em 13 lotes através de vírus neutralização (Farkas et al., 1998).

Em um levantamento sorológico realizado em nove estados do Brasil com 2.355 soros de 127 lotes, foi encontrada uma prevalência de 92% de matrizes de frango de corte soropositivas utilizando um "kit" comercial de ELISA da marca Idexx Laboratories (Brentano et al., 2000).

O aparecimento de matrizes soronegativas em todas as fases de criação é um fato preocupante. Isto significa que elas estão susceptíveis a infecção. Se isto ocorrer durante a produção de ovos, parte da progênie fica vulnerável a infecção pelo CAV transmitido verticalmente. Embora as galinhas diminuam a tendência ao aparecimento de sintomas com a idade, elas podem se tornar infectadas e excretar o CAV em qualquer idade (Bülow, 1991).

As matrizes de frango de corte devem desenvolver anticorpos contra o CAV, em quantidades suficientes para proferir proteção a sua progênie, antes do período de reprodução iniciar. No presente trabalho, a Tabela 4 demonstra que 16,42% das matrizes não possuíam anticorpos anti-CAV na 3ª Fase de produção. O percentual de aves soronegativas foi significativamente maior (p=0,001) durante a Fase 3 do que nas outras fases de criação, provavelmente devido ao tempo decorrido do último estímulo antigênico e ao estado imune da ave nesta fase de produção.

Nos lotes em produção, analisados no presente trabalho, foram encontrados seis de 17 lotes (35,29%) com aves soronegativas na 1ª Fase, dez de 18 lotes (52,63%) possuíam aves soronegativas na 2ª Fase e dez de 20 lotes (50%) na 3ª Fase. Na Tabela 4, também pode ser observada a presença de aves soronegativas em todas as fases de criação, sempre acima de 7%. Estes dados não condizem com os resultados de Brentano et al. (2000), que concluíram que havia uma tendência ao aumento da proporção de aves soropositivas com o aumento da idade e mencionou que a população de aves soronegativas se limitava principalmente aos lotes de seis a 18 semanas de idade e havia uma tendência a 100% das aves serem positivas a partir das 25 semanas.

Os primeiros pesquisadores a estudar os títulos de anticorpos maternos para o CAV na progênie de frango de corte foram Otaki et al. (1992). Eles determinaram que títulos de anticorpos de 40(VN) em pintos de um dia conferiram proteção até as duas semanas de idade.

Malo e Weingarten (1995) determinaram que o CAV não foi encontrado nas fezes das aves com títulos iguais ou superiores a 256 em vírus neutralização.

Em aves desafiadas com o CAV patogênico pela rota intramuscular com títulos de anticorpos ≥ 8 por Vírus Neutralização, não se pode isolar o vírus novamente das fezes. O CAV foi isolado de algumas aves com títulos de anticorpos

de 7 e de todas as aves com títulos ≤ 6 (Intervet, 1994). A Vírus Neutralização é uma técnica bastante sensível para detectar anticorpos, porém, um dos maiores empecilhos para o seu uso em estudos mais extensos, é ser uma técnica cara e os resultados demorarem em torno de 3 semanas para serem obtidos.

O "kit" de ELISA utilizado (Kirkegaard, 1997) sugere que os títulos de anticorpos das matrizes devem estar entre 3.000 e 5.000 para que possam ser considerados "Títulos Protetores" para a progênie.

No presente trabalho, as matrizes na Fase de recria apresentaram uma prevalência verdadeira de 88,93% de anticorpos contra o CAV e 60% (Tabela 5) possuíam títulos de anticorpos superiores a 5.000, considerados protetores. As matrizes pertencentes a 1ª Fase de produção, apresentaram uma prevalência verdadeira de 91,94% de anticorpos anti-CAV e 64,71% de aves com anticorpos acima de 5.000. Na 2ª Fase, a prevalência foi de 91,95% e 63,16% de matrizes com títulos de anticorpos acima de 5.000 e na 3ª Fase as matrizes apresentaram uma prevalência de soropositivos de 83,58% e 55% das aves com títulos acima de 5.000. Nas matrizes vacinadas, os títulos de anticorpos da Fase de recria se encontravam entre 13.118 a 25.848, na 1ª Fase de produção, entre 12.293 a 24.085, na 2ª Fase de produção, entre 10.951 a 21.783 e por fim, na 3ª Fase de produção os títulos de anticorpos se encontravam entre 13.099 a 21.111, sendo que, de todos os lotes com títulos de anticorpos acima de 5.000, somente um lote tinha 1% das matrizes com títulos abaixo.

Quando se analisou o título de anticorpos médio dos lotes de matrizes no período de recria que estão com idade entre 8 a 13 semanas (Tabela 8), observou-se que os títulos variaram de 3.130 a 18.267 e os coeficientes de variação variaram de 35,44% a 126,07%. Dos 7 lotes analisados com esta idade, apenas três continham aves soronegativas, sendo 4,55% das aves negativas nas empresas 18 e 19 e 54,55% na empresa 9.

Em reprodutoras com menos de 10 semanas (6-9 semanas), Solsona (1996) encontrou 58,77% de aves negativas, 13,92% de aves positivas, mas com títulos de anticorpos insuficientes para transmitir uma boa proteção a sua progênie, 12,2% de aves positivas e títulos de anticorpos suficientes (2.048) para proteger a progênie e 15,07% de aves positivas e com títulos de anticorpos altos (>2.048), capazes de

conferir uma boa proteção passiva para a progênie. Contudo, este trabalho apresentou apenas os títulos médios alcançados pelos lotes, não demonstrando os coeficientes de variação.

No trabalho realizado por Brentano et al. (2000), os lotes de matrizes com idades entre seis e 18 semanas apresentaram 42% de aves sorologicamente negativas, 7% das aves com títulos de anticorpos considerados baixos pela autora e 50% das aves com títulos de anticorpos considerados adequados para proteger a progênie.

Nas analises realizadas no presente trabalho, os lotes em início de produção, possuíam uma percentagem de aves soropositivas (Tabela 5) que variou de 68,18% (com título de anticorpos médio de 2.934 e um coeficiente de variação de 118%) a 100% (com títulos de anticorpos médios que variaram de 4.034 a 19.902). Os coeficientes de variação nos lotes que possuíam 100% de soros positivos variaram entre 38,65% a 59,75%, demonstrando que ainda existiam no início de produção, 42,85% dos lotes com aves soronegativas.

Engström (1999) em seu estudo feito na Suécia utilizando 20 amostras de soro de cada lote, constatou que 18 de 94 lotes de matrizes de frango de corte não soroconverteram antes de serem transferidas de aviário com 18 a 20 semanas. Já na Fase de produção, foram encontrados anticorpos para o CAV em todos com exceção de um lote de matrizes.

Em aves em idade de reprodução (26 a 60 semanas), foram encontrados títulos de anticorpos considerados protetores em 80% das aves, sendo que somente 0,65% das aves prosseguiam sem a presença de anticorpos contra o CAV (Solsona, 1996).

No estudo realizado por Brentano et al. (2000), foram encontrados menos de 3,5% das aves com títulos de anticorpos baixos o suficiente para permitir a transmissão vertical do vírus pelas matrizes em fase de reprodução.

Apenas uma empresa (Empresa 10) relatou a ocorrência do aparecimento de sintomas clínicos na progênie dos lotes que possuíam 36 e 31 semanas de idade. O lote de 36 semanas de idade possuía um título de anticorpos médio de 8.331 e o lote de 31 semanas, possuía um título de anticorpos médio de 10.739, portanto, ambos possuíam títulos médios acima do desejado para proteger a progênie, no entanto, os coeficientes de variação foram altos (59,45% e 92,10%, respectivamente), contendo

aves com títulos abaixo de 3.000 e inclusive aves soronegativas. A infecção pelo CAV, provocando o aparecimento dos sintomas clínicos na progênie, deve ter ocorrido, provavelmente, na progênie destas matrizes soronegativas ou que tinham títulos de anticorpos baixos.

As matrizes vacinadas, referentes à parcela de 1% (duas aves) com títulos de anticorpos abaixo de 5.000, possuíam títulos acima de 4.000 e pertenciam a 2º Fase de produção, este lote apresentava um coeficiente de variação de 43,64%, contudo, a diferença encontrada entre os lotes não vacinados está na variação dos títulos de anticorpos deste lote (4.082 a 25.289) e, de acordo com Kirkegaard (1997), ainda podem conferir proteção suficiente para a sua progênie, uma vez que no manual deste "kit" de ELISA é afirmado que os títulos de anticorpos entre 3.000 – 5.000 reúnem condições de proteger a progênie. Desta forma, provavelmente toda a progênie dos lotes de matrizes vacinadas estava protegida contra a infecção clínica pelo CAV.

O coeficiente de variação médio por fase de criação nas matrizes vacinadas foi de 24,84% na Fase de recria, apresentando títulos médios de 17.586. Na 1ª Fase, foi de 31,50%, com títulos médios de 17.467, na 2ª Fase, foi de 36,38% com títulos médios de 15.601 e, na 3ª Fase, 29,88% com títulos médios de 16.022. Conclui-se que o coeficiente de variação médio foi menor em todas as fases de criação das matrizes vacinadas e os títulos de anticorpo médios não possuem a tendência de queda com o passar da idade, como ocorreu nas matrizes não vacinadas e normalmente ocorre com títulos vacinais.

Nos 64 lotes de matrizes não vacinadas, 10 lotes apresentaram um coeficiente de variação semelhante ao encontrado nas matrizes vacinadas, que foi de 31,23% até 39,87%, e os títulos de anticorpos médios dentro destes 10 lotes variaram de 3.130 a 18.614. Contudo, dois destes lotes continham aproximadamente 4% de aves soronegativas, demonstrando que, apesar do CV ser semelhante ao das vacinadas, ainda haviam aves soronegativas com potencial para transmitir o vírus de forma vertical.

O CV médio por fase de criação das matrizes expostas à infecção natural estava sempre acima de 50% em todas as fases (Tabela 9). Na Fase de recria, o CV variou de 34,37% a 126,07%, na 1ª Fase o CV variou de 38,65% a 118,03%, na 2ª

Fase o valor variou de 38,61% a 141,84% e na 3ª Fase variou de 31,23% a 141,84%, do que se conclui que a grande maioria dos lotes de matrizes expostas à infecção natural pelo CAV não possuem uma boa uniformidade nos títulos de anticorpos de suas matrizes.

O presente trabalho teve o objetivo de determinar indiretamente, o grau de proteção contra a anemia das galinhas que a progênie das matrizes possui em condições comerciais. Desta forma, verificou-se que um certo percentual da progênie de matrizes não vacinadas, está parcial ou totalmente suscetível à doença clínica. A utilização de vacina pode reduzir esta proporção suscetível da progênie, contudo, somente experimentos que levem em conta os custos desta vacinação e o benefício econômico de sua utilização poderão esclarecer definitivamente se sua utilização é recomendável.

5 CONCLUSÃO

Todos os lotes de matrizes de corte não vacinados foram infectados pelo vírus da anemia das galinhas (CAV) já na Fase de recria.

A prevalência de matrizes não vacinadas soropositivas manteve-se constante nas Fases de recria até o pico de produção, caindo no último terço da produção.

Das matrizes não vacinadas, 11,14% provavelmente geraram uma progênie suscetível e 36,53% geraram uma progênie parcialmente suscetível à anemia infecciosa das galinhas.

Todas as matrizes vacinadas tiveram títulos de anticorpos suficientes para proteger a progênie, apresentando títulos de anticorpos acima de 4000.

Os títulos médios de anticorpos das matrizes vacinadas e não vacinadas foram superiores a 5000 já na Fase de recria e se mantiveram acima deste valor em todas as fases de criação analisadas.

Os títulos de anticorpos gerados nos lotes de matrizes naturalmente infectados foram mais desuniformes, já que o Coeficiente de Variação obtido em lotes de matrizes não vacinadas foi superior ao obtido nos lotes de matrizes vacinadas em 82,81% dos casos.

.

6 BIBLIOGRAFIA

1. BLAS, I.; ORTEGA, C.; FRANKENA, K.; NOORDHUIZEN, J.; THRUSFIELD, M. Win Episcope 2.0, **EPIDECON, Borland® y Delphi™.** [1998]**,** disponível em http://clive.ed.ac.uk/winepiscope/

2. BRENTANO, L.; MORAES, N.; WENTZ, I.; CHANDRATILLEKE, D.; SCHAT, K. Isolation and identification of chicken infectious anemia virus in Brazil. **Avian Diseases** 1991. 35:793-800.

3. BRENTANO, L.; SILVA, B.G.da; SAYD, S.; FLORES, S.W. Anticorpos para o vírus da anemia das aves (cav) em matrizes de corte no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v.2 nº 2 p 157-179. 2000

4. BÜLOW, V. V. Avian infectious anemia and related syndrome caused by chicken anaemia virus. **Crit. Rev. Poult. Biol**. 3:1-17. 1991.

5. BÜLOW, V.V.; WITT, M. Vermehrung des Erregers der aviären infektiosen Anämie (CAA) durch serien-passagen in Zellkulturen. 1986. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

6. BÜLOW, V.V.; FUCHS, B.; BERTRAM, M. Untersuchungen über den Erreger der infektiosen Anämie bei Hühnerküken (CAA) in vitro: Vermehrung, Titration, serumneutralisationstest und indirekter immunfluoreszenztest. 1985. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

7. BÜLOW, V.V.; FUCHS,B.; VIELITZ, E.; LANDGRAF, H. Frühsterblichkeitssyndrom bei Küken nach Doppelinfektion mit dem Virus der Marekschen Krankheit (MDV) und einem Anämie-Erreger (CAA). 1983. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

8. BÜLOW, V.V.; RUDOLPH, R.; FUCHS, B. ErhöhtePathogenität des Errgers der aviäre infektioses Anämie bei Hühnerküken (CAA) bei simultaner Infektion mit dem Virus der Marekschen Krankheit (MDV), Bursitisvirus (IBDV), oder Reticuloendotheliosevirus (REV). 1986. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

9. BUSCAGLIA, C.; CROSETTI, C.F.; NERVI, P. Identification of chicken infectious anaemia, isolation of the virus and reproduction of the disease in Argentina. **Avian Pathology**. 23: 297-304.1994.

10. CHETTLE, N.J.; EDDY, R.K.; WYETH, P.J.; LISTER, S.A. An outbreak of disease due to chicken anaemia agent in broiler chickens in England**. Veterinary. Record**. 124: 211-215. 1989.

11. CHETTLE, N.J.; EDDY, R.K.; SAUUDERS,J.; WYETH, P.J. A comparison of serum neutralization, immunofluorescence and immunoperoxidase tests for the detection of antibodies to chicken anaemia agent. **Veterinary Record**. 128:304-306. 1991.

12. CHETTLE, N.J.; EDDY, R.K.; WYETH, P.J.; LISTER, S.A. An outbreak of disease due to chicken anaemia agent in broiler chickens in England. **Veterinary Record**. 124:211-215. 1989.

13. CONNOR, T. J.; MCNELLY, F.; FIRTH, G.A.; MCNULTY, M.S. Biological characterization of Australian isolates of chicken anaemia agent. **Australian Veteterinary Journal**. 1991. 68: 199-201.

14. DRÉN, Cs.N.; RÁTZ, F.; GLÁVITS, R.; NAGY, E.; DOBOS-KOVÁCS, M.; KOCH, G.; HUURNE, A.A.H.M. ter; NOTEBORN, M.H.M.; PALYA, V. Diagnostic and Economic Problems of Infections in Hungary. 1996

15. DROUIN, P.; PICAULT, J.P.; PLASSIART, G.; CHEREL, Y.; TOQUIN, D.; TOUX, J.Y.; GUITTET, M.; BENNEJEAN, G.; WYERS, M. La maladie des ailes bleues chez le poulet – premières observations en France. 1992. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

16. ENGSTRÖM, B.E.; LUTHMAN, M. Blue wing disease de chickens: Signs, pathology and natural transmission. **Avian Pathology**. 13:1-12. 1984.

17. ENGSTRÖM, B.E. Blue wing disease of chickens. Isolation of avian reovirus and chicken anaemia agent. **Avian Pathology**. 17: 23-32. 1988.

18. ENGSTRÖM, B.E. Prevalence of Antibody to Chicken Anaemia Virus (CAV) in Swedish Chicken Breeding Flocks Correlated to Outbreaks of Blue Wing Disease (BWD) in their Progeny. **Acta Vet. Scand**. 40:97-107. 1999.

19. FARKAS, T; MAEDA, K.; SUGIURA, H.; KAI, K.; HIRAI, K.; OTSUKI, K.; HAYASHI, T. A serological survey of chickens, Japanese quail, pigeons, ducks and crows for antibodies to chicken anaemia virus (CAV) in Japan. **Avian Pathology**. 27:316-320. 1998.

20. FARKAS, T.; DRÉN, CS.; NEMETH, I.; DOBOS-KOVÁCS, M.; POVAZSÁN, J.; SÁGHY, E. Isolation of chicken anaemia virus from broiler chickens. **Acta Vet Hung**. 40:207-223. 1992.

21. FIRTH, G.A.; IMAI, K. Isolation of chicken anemia agent from Australian poultry. **Australian Veterinary Journal**. 67:301-302. 1990.

22. GELDERBLOM, H.; KLING, S.; LURZ, R.; TISCHER, I.; BÜLOW, V.V. Morphological characterization of chicken anaemia agent (CAA). **Arch. Virol**. **.** 109: 115-120. 1989.

23. GOODWIN, M.A.; BROWN, J.; MILLER, S.L.; SMELTZER, M.A.; STEFFENS, W.L.; WALTMAN, W.D. Infectious anemia caused by a parvovirus-like virus in Georgia broilers. **Avian Diseases**. 33: 438-445. 1989.

24. GOODWIN, M.A.; BROWN, J.; SMELTZER, M.A.; CRARY, C.K.; GIRSHICK, T.; MILLER, S.L.; DICKSON, T.G. A survey for parvovirus-like virus (so-called chick anemia agent) antibodies in broiler breeders. **Avian Diseases**. 34: 704-708. 1990.

25. GOODWIN, M.A.; LAMICHHANE, C.M.; BROWN, J.; SMELTZER, M.A.; MILLER, S.L.; GIRSHICK, T.; SNYDER, D.B.; DICKSON, T.G. Relationship of the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Indirect Immunofluorescent Antibody Test for the Detection of So-Called Chicken Anemia Agent Antibodies in Serum from Broiler Breeders . **Avian Diseases**. 36:512-514. 1992.

26. GORYO, M.; SUGIMURA, H.; MATSUMOTO, S.; UMEMURA, T.; ITAKURA, C. Isolation of an agent inducing chicken anaemia. **Avian Pathology**. 14: 483-496.1985.

27. GORYO, M.; SUWA, T.; MATSUMOTO, S.; UMEMURA, T.; ITAKURA, C. Serial Propagation and purification of chicken anaemia agent in MDCC-MSB1 cell line. **Avian Pathology**. 16: 149-163. 1987.

28. GORYO, M.; SUWA, T.; UMEMURA, T.; ITAKURA, C.; YAMASHIRO, S. Histopathology of chicks inoculated with chicken anaemia agent (MSB1-TK5803 strain). **Avian Pathology.** 18: 73-89. 1989.

29. HOOP, R.K.; GUSCETTI, F.; KELLER, B. Ein Ausbruch von infektioser kükernanämie bei Mastküken in der schweiz. 1992. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

30. INTERVET INTERNATIONAL B.V. **CAA VACCINE NOBILIS**. Boxmeer Holanda, 1994. 27p

31. JORGENSEN, P. H. A micro-scale serum neutralization test for the detection and titration of antibodies to chicken anaemia agent – Prevalence of antibodies in Danish chickens. **Avian Pathology**. 19:583-593. 1990.

32. KIRKEGAARD AND PERRY LABORATORIES. **Chicken anemia virus antibody test kit:** catálogo nº54-80-01. Gaithersburg, Maryland: KPL, 1997.

33. LAMICHHANE, C.M.; SYNDER, D.B.; GIRSCHICK, T.; GOODWIN, M.A.; MILLER, S.L. Development and Comparison of Serologic Methods for Diagnosing Chicken Anemia Virus Infection. **Avian Diseases**. 36: 725-729. 1992.

34. LI, X.X.; XU, W.Y.; TANG, G.Y. Isolation and identification of the chicken anemia virus and serological survey in China. 1994. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

35. LUCIO, B.; SCHAT, K.A.; SHIVAPRASAD, H.L. Identification of the chicken anemia agent, reproduction of the chicken anemia agent, reproduction of the disease, and serological survey in the United States. **Avian Diseases**. 34: 146-153. 1990.

36. MALO, A.; WEINGARTEN, M. Determination of the minimum protective neutralizing antibody titre to CAV in adult chickens. **VSD Newsletter**. 11:1-5. 1995.

37. McLLROY, S.G.; McNULTY, M.S.; BRUCE, D.W.; SMYTH, J.A.; GOODALL, E.A.; ALCORN, M.J. Economic effects of clinical chicken anemia agent infection on profitable broiler production. **Avian Diseases**. 36: 566-574. 1992.

38. McNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F.; KIRKPATRICK, K.S.; McFERRAN, J.B. A serological survey of domestic poultry in the United Kingdom for antibody to chicken anemia agent. **Avian Pathology**. 17: 315-324. 1988.

39. McNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F.; McLOUGHLIN, M.F.; KIRKPATRICK, K.S. Preliminary characterization of isolates of chicken anaemia agent from the United Kingdom. **Avian Pathology**. 19:67-73. 1990.

40. McNULTY, M.S.; MCILROY, S.G.; BRUCE, D.W.; TODD, D. Economic effects of subclinical chicken anemia infection in broiler chicks. **Avian Diseases**. 35: 63-268. 1991.

41. McNULTY, M. S. Chicken anaemia agent: a review. **Avian Pathology**. 20:187-203. 1991.

42. MURPHY, F.A. Virus taxonomy en **"Fields Virology"**. In: Fields, B.N.; Knipe, D.M.; Howley, P.M. Philadelphia: Lippincott-Raven. 3ª ed. 1996. p 15-58.

43. NOTEBORN, M.H.M.; BOER, G.F.; VAN ROOZELAAR, D.J.; KARREMAN, C.; KRANENBURG, O.; VOS, J.G.; JEURISSEN, S.H.M.; HOEBEN, R.C.; ZANTEMA, A.; KOCH, G.; VAN ORMONDT, H.; VAN DER EB, A.J. Characterization of cloned chicken anemia virus DNA that contains all elements for the infectious replication cycle. **Journal of Virology.** 65: 3131-3139. 1991.

44. NOTEBORN, M.H.M.; TODD, D.; VERSCHUEREN, C.A.J.; DE GAUW, H.W.F.M.; CURRAN, W.L.; VELDKAMP, S.; DOUGLAS, A.J.; McNULTY. M.S.; VAN DER EB, A.J.; KOCH, G. A single chicken anemia virus protein apoptosis. **Journal of Virology**. 68: 346-351. 1994.

45. OTAKI, Y.; NUNOYA, T.; TAJIMA, M.; TAMADA, H.; NOMURA, Y. Isolation of chicken anaemia agent and Marek's diseases virus from chickens vaccinated with turkey herpes virus and lesions induced in chicks by inoculating both agents. **Avian Pathology**. 16: 291-306. 1987.

46. OTAKI, Y.; SAITO, K.; TAJIMA, M.; NOMURA, Y. Persistence of maternal antibody to chicken anaemia agent and its effect on the susceptibility of young chickens. **Avian Pathology**. 21:147-151. 1992.

47. PEREIRA, Maurício Gomes. **Epidemiologia Teoria e Prática.** Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 2000. 596p.

48. ROSENBERGER, J.K.; CLOUD, S.S. The isolation and characterization of chicken anemia agent (CAA) from broilers in the United States. **Avian Diseases**. 33: 707-713. 1989.

49. SHIVAPRASAD, H.L.; CHIN, R.P.; JEFFREY, J.S.; LATIMER, K.S.; NORDHAUSEN, R.W.; NIAGRO, F.D.; CAMPAGNOLI, R.P. Particles resembling circovirus in the bursa of Fabricius of pigeons. **Avian Diseases**. 38:635-641. 1994.

50. SOLSONA J.G. **Ineracion del CAV con otras virosis aviares.** Salamanca: Laboratórios intervet, [1996]. 10p.

51. STANISLAWEK, W.L.; HOWELL, J. Isolation of chicken anaemia virus from broiler chickens in New Zealand. 1994. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

52. TODD, D.; CREELAN, J.L.; MACKIE, D.P.; RIXON, F.; McNULTY, M.S. Purification and biochemical characterization of chicken anaemia agent. **J. Gen. Virol**. 71: 819-823. 1990a.

53. TODD,D.; NIAGRO, F.D.; RITCHIE, B.W.; CURRAN, W.; ALLAN, G.M.; LUCKERT, P.D.; LATIMER, K.S.; STEFFENS III, W.L.; McNULTY, M.S. Comparison of three animal viruses witch circular single-stranded DNA genomes. **Archives of Virology**. 117:129-135. 1991

54. TODD, D; MACKIE, D.P.; MAWHINNEY, K.A.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F.; McNULTY, M.S. Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to detect Serum Antibody to Chicken Anemia Agent. **Avian Diseases**. 34:359-363. 1990b.

55. TODD, D.; CONNOR, T.J.; CALVERT, V.M.; CREELAN, J.L.; MEEHAN, B.M.; McNULTY, M.S. Molecular cloning of an attenuated chicken anaemia isolate following repeated cell culture passage. **Avian pathology**. 24: 171-187. 1995.

56. TODD, D.; MAWHINNEY, K.A.; GRAHAM, D.A.; SCOTT, A.N.J. Development of a blocking enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of chicken anaemia virus. **Journal of Virological Methods**. 82: 177-184. 1999.

57. TORO, H.; McNULTY, M.S.; HIDALGO, H.; ROSENDE, S.; CONNOR, T.J. Detection of chicken anemia virus antibodies in four poultry operations in Chile. **Prev Vet Med.** 21: 103-106. 1994.

58. **União Brasileira de Avicultura** – UBA. Disponível em: <URL:http://www.uba.org.br/indexa.htm. Acesso em 27 de set. 2001.

59. VIELITZ, E.; LANDGRAF, H. Anaemia-dermatitis of broilers: Field observations on its occurrence, transmission and prevention. **Avian Pathology**. 17: 113-120. 1988.

60. WICHT, J.V.; MAHARAJ, S.B. Chicken anaemia agent in South Africa. **Veterinary Record**. 133: 147-148. 1993.

61. WOODS, L.W.; LATIMER, K.S.; BARR, B.C.; NIAGRO, F.D.; CAMPAGNOLI, R.P.; NORDHAUSEN, R.W.; CASTRO, A.E. Circovirus-like infection in a pigeon. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. 5:609-612. 1993.

62. YUASA, N.; TANIGUCHI, T.; YOSHIDA, I. Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. **Avian Diseases**. 23: 366-385. 1979.

63. YUASA, N.; TANIGUCHI, T.; NOGUCHI, T.; YOSHIDA, I. Effect of infectious bursal disease virus infection on incidence of anemia by chicken anemia agent. **Avian Diseases**. 24: 202-209. 1980.

64. YUASA, N.; IMAI, K.; TEZUKA, H. Survey of antibody against chicken anaemia agent (CAA) by an indirect immunofluorescent antibody technique in breeder flocks in Japan. **Avian Pathology**. 14: 521-530. 1985.

65. YUASA, N.; IMAI, K. Pathogenicity and antigenicity of eleven isolates of chicken anaemia agent (CAA). **Avian Pathology**. 15: 639-645. 1986.

66. YUASA, N.; IMAI, K.; WATANABE, K.; SAITO, F.; ABE, M.; KOMI, K. A etiological examination of an outbreak of haemorrhagie in a broiler flocks in Japan. **Avian Pathology**. 16: 521-526. 1987.

67. YUASA, N. Effect of chemicals on the infectivity of chicken anaemia virus. **Avian Pathology**. 21:315-319. 1992.

68. YUASA, N. Propagation and infectivity titration of the Gifu-1 strain of chicken anemia agent in cell line (MDCC-MSB1) derived from Mareck's disease lymphoma. 1983. In: CALNEK B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; MCDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry.** 10ª ed, Iowa EUA, 1997; cap.31, p.739-756.

69. ZHOU, W.; YANG, B.; SHEN, B.; HAN, S.; ZHOU, J. A serologic Survey of Antibody Against Chicken Infectious Anemia Virus by Indirect Immunofluorescent Assay in Domestic Poultry in China. **Avian Diseases**. 40:358-360. 1996.