UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Izabella Gomes Hergot

LARINGOTRAQUEITE INFECCIOSA DAS AVES: Análise das ações do Serviço Veterinário Oficial para controle de foco em granjas de postura do estado de Minas Gerais

Belo Horizonte

2019

Izabella Gomes Hergot

LARINGOTRAQUEITE INFECCIOSA DAS AVES: Análise das ações do Serviço Veterinário Oficial para controle de foco em granjas de postura do estado de Minas Gerais

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.
Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva
Orientadora: Prof.ª Dr.ª Roselene Ecco

Belo Horizonte

2019

Hergot, Izabella Gomes, 1981
H545l Laringotraqueite infecciosa das aves: Análise das ações do serviço veterinário oficial para controle de foco em granjas de postura do Estado de Minas Gerais/ Izabella Gomes Hergot – 2019.
93p.: il.

Orientador: Roselene Ecco

Dissertação de Mestrado apresentada na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

1- Galinha –Doenças - Teses - 2- Laringe - Doenças – Teses – 3 – Traqueia – Doenças - Teses - 4 – Histopatologia Veterinária – Teses – I –Ecco, Roselene – II – Universidade Federal de Minas Gerais – III - Veterinária.

CDD – 636.08969

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

UFMG UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FOLHA DE APROVAÇÃO

IZABELLA GOMES HERGOT

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA .

Aprovada em 29 de Março de 2019, pela banca constituída pelos membros:

Roselene Ecco

Profª. Roselene Ecco
Presidente - Orientador

Profª. Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha
Universidade Federal de Lavras - UFLA

Prof. Nelson Rodrigo da Silva Martins
Escola de Veterinária - UFMG

Fabiana Galtarossa Xavier

Drª. Fabiana Galtarossa Xavier
Ministério da Agricultura ,Pecuária e Abastecimento - MAPA

Prof. Leonardo José Camargos Lara
Escola de Veterinária - UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Av. Antônio Carlos, 6627 -
Caixa Postal 567 – CEP 30123-970
Belo Horizonte – Minas Gerais
Telefone: (31) 3409-2057/2059(fax)
www.vet.ufmg.br
E-mail cap@vet.ufmg.br

Escola de Veterinária
UFMG

AGRADECIMENTOS

À minha família, meus pais, meu esposo e meu filho por terem sido meu esteio nestes últimos anos. Sem o apoio, amor e dedicação de vocês, essa conquista não seria possível. À minha mãe Inês, agradeço por tantas vezes fazer o meu papel de mãe. Ao meu pai Raymond, agradeço por estar sempre pronto para me ajudar. Ao meu amado Paulo, agradeço por encarar comigo todas as batalhas, e me ajudar a escolher o melhor caminho a seguir. Ao meu pequeno Gabriel, por ser a minha fonte de vida.

À minha orientadora, professora Roselene Ecco, por ter me guiado durante estes oito anos de controle da laringotraqueite infecciosa, sem medir esforços para ajudar no meu crescimento profissional. Agradeço por ter me ensinado a trabalhar com ética e dedicação apesar de todas as dificuldades que encontramos pelo caminho.

Aos professores da EV-UFMG, agradeço pelos preciosos ensinamentos, em especial aos professores Nelson Rodrigo e Leonardo Lara. À professora Kitty, agradeço pela parceria ao longo de todo o estudo da LTI.

Ao Instituto Mineiro de Agropecuária, pela concessão da liberação para esse mestrado, principalmente ao Guilherme, meu chefe imediato, pela confiança depositada em mim para a construção deste trabalho.

Aos colegas do GAVEA, agradeço pela fidelidade e pela disposição diária para vencer os desafios que a avicultura nos traz. Aos colegas da GDA, agradeço por dividirem comigo a vontade de realizar a perfeita defesa sanitária animal! Aos colegas da Coordenadoria Regional de Varginha, Simone, Luiz Antônio, Marcia, Zé Ronaldo, Alexandre e Marden, agradeço pelo apoio em todas as idas e vindas à Itamonte ao longo destes oito anos.

À equipe *Eccoteam*, agradeço por transformarem os dias difíceis em risadas gostosas e por tornarem as viagens à Itamonte em agradáveis momentos de aprendizado. Leticia, William, Philipe, Matheus, Ana Carolina, Ágna e Maria: muito obrigada!

À equipe de patologia do LFDA-MG em Pedro Leopoldo, agradeço imensamente por toda a ajuda e ensinamentos que me passaram com todo carinho! Fabiana e Ivy, vocês foram uma benção na minha vida!

À SFA- MG, em especial à Denise Viégas pelo carinho e ensinamentos em todas as ações de defesa que realizamos. À equipe do LFDA-SP, agradeço pelo apoio durante toda a execução deste trabalho.

Às amigas Kenia e Laura, pelos conselhos na hora certa, pelas palavras duras que precisei ouvir, mas principalmente por estarem do meu lado em todos os momentos que precisei de vocês.

Por fim, não poderia deixar de louvar e agradecer ao meu Senhor Jesus, por todas as bênçãos a mim concedidas.

RESUMO

Em Minas Gerais, a LTI em galinhas foi notificada pela primeira vez em novembro de 2010, na região denominada Terras Altas da Mantiqueira e desde então o controle da doença tem sido fiscalizado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária. Para verificar a eficiência deste controle, o Serviço Veterinário Oficial realizou inquéritos soroepidemiológicos nos seguintes períodos: novembro de 2016, outubro de 2017 e maio de 2018. De forma simultânea, foram avaliadas as taxas de mortalidade e as medidas de biosseguridade implementadas nas granjas da região interditada. Utilizaram-se diferentes técnicas para identificar a doença (sinais clínicos, macroscopia e histopatologia) e técnicas moleculares para identificar a infecção. As granjas da região interditada que possuem maior capacidade de alojamento e consequentemente maior fluxo de veículos e de pessoas foram relacionadas à ocorrência de surtos de LTI, apesar de medidas mínimas de biosseguridade terem sido implementadas nestas granjas. A doença não foi diagnosticada nas granjas menores e mais isoladas, apesar dos resultados demonstrarem a atividade do vírus nestas explorações. As taxas de mortalidade tiveram valores acima do esperado, entretanto este aumento não foi atribuído exclusivamente à LTI. Amostras de aves alojadas em granjas externas à região do foco também foram analisadas para verificar a ocorrência da doença fora da área interditada. As medidas de restrição do trânsito de aves e de esterco impediram, até o momento, a disseminação do vírus ou da doença para granjas poedeiras de outras regiões do estado de MG, uma vez que os dados clínicos e os testes moleculares e sorológicos foram negativos para a doença e vírus, respectivamente. Por fim, os resultados deste estudo indicaram que o vírus está ativo na região de controle oficial, e que as medidas tomadas pelo SVO foram capazes de restringir o foco nesta região e melhorar a biosseguridade das granjas. Porém, o controle deve ser mantido por meio de uma vigilância rigorosa e exigências na melhoria na biosseguridade para mitigar o risco de ocorrência da laringotraqueite nessa e em outras regiões.

Palavras chaves: biosseguridade, vírus da laringotraqueite infecciosa, Terras Altas da Mantiqueira, postura comercial, doença respiratória, serviço veterinário oficial, histopatologia.

ABSTRACT

ILT in chickens was notified for the first time in November 2010, in the region named Terras Altas da Mantiqueira, Minas Gerais state, Brazil. Since then, the control of the disease has been monitored by the Instituto Mineiro de Agropecuária. To verify the effectiveness of this control, the Official Veterinary Service carried out epidemiological serum surveys in the following periods: November 2016, October 2017 and May 2018. Simultaneously, mortality rates and biosecurity measures on farms region were evaluated. Different techniques were used to identify the disease (clinical signs, macroscopy and histopathology) and molecular techniques to identify the infection. The farms in the quarantine region that have greater housing capacity and consequently greater flow of vehicles and people, were related to the occurrence of ILT outbreaks, although minimal biosecurity measures were implemented in these farms. The disease was not diagnosed in the smaller and more isolated farms, although the results demonstrated the existence of the virus in these farms. The mortality rates were higher than expected, however, this increase is not attributed exclusively to ILT. Samples of chickens housed on farms outside of the quarantine region were also examined to verify the occurrence of the disease outside to the quarantine area. Measures to restrict chickens and poultry litter traffic have so far prevented the spread of the virus or disease to laying farms in other regions of the state of Minas Gerais, since clinical and molecular and/or serological tests were negative for the disease and virus, respectively. Finally, the results of this study indicated that the virus is active in the official control region, and the measures taken by the SVO have been able to prevent outbreak outside of this region and improve the biossecurity of farms. However, control should be maintained through strict surveillance and demands for improved biosecurity to mitigate the risk of laryngotracheitis occurring in this and other regions.

Keywords: biosecurity, infectious laryngotracheitis virus, Terras Altas da Mantiqueira, commercial posture, respiratory disease, official veterinary service, histopathology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Países que notificaram a ocorrência da LTI entre os anos de 1923 e 1965	29
Figura 2	Distribuição da LTI no mundo	30
Figura 3	Notificações oficiais à OIE de surtos que ocorreram no Brasil no período de 2008 a 2018.	32
Figura 4	Mapa de localização dos cinco municípios envolvidos na ocorrência da LTI em Minas Gerais: Itamonte, Itanhandu, Passa Quatro, Pouso Alto e Pedralva	33
Figura 5	Mapeamento das granjas amostradas no inquérito realizado na região das Terras Altas da Mantiqueira nos anos de 2016 e 2017	36
Figura 6	Localização das granjas que participaram do inquérito soroepidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas como risco para LTI	42
Figura 7	Granja tipo californiana	45
Figura 8	Granja tipo californiana modificada	45
Figura 9	Localização das Granjas vinculadas às granjas de recria de Pedralva, investigadas para a ocorrência de LTI	48
Figura 10	Mapa de localização dos frigoríficos e sala de abate que recebem as aves de descarte da região das Terras Altas da Mantiqueira	49
Figura 11	Granjas e suas respectivas propriedades de compostagem	51
Figura 12	Número de lotes que receberam diagnóstico positivo para LTI nas coletas de vigilância passiva realizadas na região interditada no período de 2010 a 2018	53
Figura 13	Cronologia das ações relacionadas ao uso da vacina recombinante vetorizada na região das Terras Altas da Mantiqueira	53
Figura 14	Mapeamento dos resultados das coletas realizadas em 2016	61
Figura 15	Mapeamento dos resultados das coletas realizadas em 2017	62
Figura 16	Imagem de satélite do bairro Jardins, em Itanhandu	72
Figura 17	Imagem de satélite da localidade Pé do Morro, em Passa Quatro	75

Figura 18 Granja sem cerca de isolamento, com veículo e cachorro próximos ao galpão das aves 74

Figura 19 Granja com cerca adequada ao isolamento das aves 74

Figura 20 Veículos sendo desinfetados antes de entrar na granja 75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Granjas selecionadas para o inquérito soroepidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas como risco para LTI 41

Tabela 2 Capacidade de alojamento dos galpões das granjas da região interditada 44

Tabela 3 Síntese das ações realizadas nas granjas de recria localizadas no município de Pedralva 46

Tabela 4 Granjas vinculadas às granjas de recria de Pedralva e que foram investigadas para a ocorrência de LTI 47

Tabela 5 Distribuição das granjas de acordo com os resultados clínicos e laboratoriais das aves da Região das Terras Altas da Mantiqueira, Minas Gerais, Bras 55

Tabela 6 Granjas com diagnóstico positivo para LTI e as respectivas informações sobre a presença de sinais clínicos e achados de necropsia em aves examinadas após a introdução das vacinas recombinantes vetorizadas contra LTI nas granjas da região. 56

Tabela 7 Menor e maior taxa de mortalidade mensal observada no período de janeiro de 2016 a setembro de 2018 nas granjas de postura interditadas 63

Tabela 8 Distribuição dos indicadores de biosseguridade das granjas das Terras Altas da Mantiqueira entre os anos de 2010 e 2018 66

Tabela 9 Avaliação do nível de biosseguridade das granjas das Terras Altas da Mantiqueira. 66

Tabela 10 Distribuição dos scores de avaliação da biosseguridade segundo avaliação da melhoria final (2010-2018) 67

Tabela 11 Resultados sorológicos e de qPCR para pesquisa do VLTI em aves das granjas de postura consideradas como risco para LTI 78

LISTA DE ABREVIATURAS

CEO - *Cell embryo origin*

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CI – Corpúsculo de inclusão intranuclear

ELISA - Ensaio de imunoabsorção enzimática

EV/UFMG - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais

FPV-LT - Vacina recombinante vetorizada para laringotraqueíte infeciosa tendo como vetor *Avipoxvirus fowlpox*

FPV - *Avipoxvirus fowlpox*

GaHV-1 - *Gallid herpesvirus* - 1

GTA- Guia de Trânsito Animal

HE - Coloração de hematoxilina e eosina

HVT - *Herpesvirus* 1 dos perus

HVT-LT – Vacina recombinte vetorizada para laringotraqueíte infeciosa tendo como vetor *Herpesvirus* 1 dos perus

IB - Indicador de Biosseguridade

IBG - Indicador de Biosseguridade Geral

IncB - Incremento de Biosseguridade

IncBG - Incremento Geral IHQ – Imuno-histoquímica

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária

LFDA- Laboratório Federal de Defesa Agropecuária

LPV/LFDA-MG – Laboratório de Patologia Veterinária do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária em Minas Gerais

LTI - Laringotraqueíte infecciosa

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ODR – Outras doenças respiratórias

OIE - Office International des Epizooties - World Organization for Animal Health

PCR - Reação em cadeia pela polimerase

QGIS - *softer* de geoprocessamento

qPCR – Reação em cadeia pela polimerase em tempo real

RT – Responsável Técnico

SIDAGRO - Sistema de Defesa Agropecuária

SVO – Serviço Veterinário Oficial

TCO - *Tissue cell origin*

VLTI - Vírus da laringotraqueíte infecciosa aviária

SUMÁRIO

1.	**INTRODUÇÃO**	14
2.	**OBJETIVOS**	16
3.	**REVISÃO DE LITERATURA**	17
3.1	Etiologia	17
3.2	Epidemiologia	18
3.3	Replicação Viral	19
3.4	Sinais Clínicos	20
3.5	Lesões Macroscópicas	20
3.6	Lesões Microscópicas	21
3.7	Sistema Imunológico	22
3.8	Diagnóstico	22
3.8.1	Histopatologia	23
3.8.2	Sorologia	23
3.8.3	Cultura e isolamento do vírus	24
3.8.4	Reação em Cadeia pela Polimerase – PCR	24
3.9	Diagnostico diferencial	25
3.10	Controle e prevenção	25
3.10.1	Vacina viva atenuada	26
3.10.2	Vacina recombinante vetorizada	27
3.11	Distribuição geográfica do VLTI	28
3.11.1	Distribuição mundial	28
3.11.2	Distribuição no Brasil	31
4.	**MATERIAL E METODOS**	34
4.1	Ações de controle da LTI no estado de MG	34
4.2	Inquérito soroepidemiológico e clínicopatológico realizado na região das Terras Altas da Mantiqueira	34
4.2.1	Coletas de amostras	35
4.2.2	Processamento das amostras	37
4.2.2.1	LFDA- SP em Campinas	37
4.2.2.2	Laboratórios de Patologia Animal e Molecular EV-UFMG	38
4.2.2.3	LFDA-MG em Pedro Leopoldo	38
4.2.3	Análise de dados	39
4.2.3.1	Análise da taxa de mortalidade	39
4.2.3.2	Análise da biosseguridade	39
4.3	Inquérito epidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas como risco para LTI	40
5.	**RESULTADOS**	43
5.1	Histórico das granjas e ações de controle realizadas pelo SVO	43
5.1.1	Controle sanitário nas granjas de recria localizadas em Pedralva	45
5.1.2	Investigação das granjas de vínculo com as de recria localizadas em Pedralva	46
5.1.3	Descarte das aves da região	48
5.1.4	Trânsito do esterco	50
5.1.5	Vacinação e controle da LTI na região das Terras Altas da Mantiqueira	51
5.2	Resultados do Inquérito soroepidemiológico e clínicopatológico realizado na região das Terras Altas da Mantiqueira	54
5.2.1	Resultados das coletas realizadas na região das Terras Altas da Mantiqueira nos anos de 2016 e 2017.	54
5.2.2	Resultados da mortalidade	63
5.2.3	Análise da biosseguridade das granjas de postura comercial da região das Terras Altas da Mantiqueira	64
5.3	Resultados do inquérito soroepidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas em risco para a ocorrência de LTI	77
6.	**DISCUSSÃO**	78

7.	CONCLUSÕES	83
8.	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	83
9	ANEXOS	89

1. INTRODUÇÃO

A laringotraqueite infecciosa (LTI) é uma doença aguda respiratória, altamente contagiosa, que acomete o sistema respiratório de galinhas e é causada por um alfa herpesvírus, denominado herpesvírus dos galináceos (do inglês, *Gallid herpes vírus*-1-GaHV-1**)**, membro da subfamília *Alphaherpesvirinae*, familia *Herpesviridae* (Guy et al., 2013; *International Committee of Taxonomy of Viruses*, 2018).

Apesar dos galináceos serem os principais hospedeiros, a doença também pode ocorrer em faisões, perdizes e pavão (Crawshaw e Boycott, 1982; Guy et al., 2013). Estudo demonstrou a susceptibilidade dos perus ao vírus da LTI, porém apenas em infecções experimentais (Winterfield e Gwan So, 1968). Os anseriformes são refratários aos vírus, apesar de anticorpos terem sido detectados nestas aves (Yamada et al., 1980).

A doença possui duas formas de manifestação clínica: a grave e a leve. A forma grave é caracterizada por sinais de dificuldade respiratória, dispneia, tosse e expectoração muco-sanguinolenta seguida de morte (Guy et al., 2013). A forma leve manifesta-se por meio de retardo no crescimento, queda variável na produção de ovos, lacrimejamento dos olhos, aumento dos seios infraorbitários, conjuntivite e secreção nasal (Sellers et al., 2004).O vírus da laringotraqueite infecciosa aviária (VLTI) infecta primariamente o sistema respiratório superior e, por isso, é comum observar laringite e traqueíte, associadas à produção de muco, edema e congestão do epitélio (Bagust, 1986; Guy et al., 2013). Lesões inflamatórias também podem ser observadas na região dos seios infraorbitários e da conjuntiva. O excesso de muco produzido no lúmen da traqueia, associado aos restos celulares e, em alguns casos, a coágulos de sangue, podem formar exsudato denso, geralmente chamado de “tampão” que obstrui as vias respiratórias e provoca a morte das aves (Jordan, 1966; Guy et al., 2013).

Nos primeiros dois dias após a infecção, há perda das células caliciformes e infiltração de células inflamatórias. Com a progressão da doença, ocorre hiperplasia das células do epitélio respiratório e da conjuntiva formando os sincícios, que são caracterizados por possuir múltiplos núcleos. O acúmulo de partículas virais forma o corpúsculo de inclusão intranuclear (CI) e sua presença define o diagnóstico da LTI (Hayashi, 1985).

A LTI está relacionada a graves prejuízos econômicos por causar alta morbidade e mortalidade, esta última quando ocorre a forma grave da doença (Guy e Garcia, 2008). Os prejuízos também são consequência da queda na produção de ovos, no desempenho das aves e à predisposição a outras doenças respiratórias (Guy et al., 2013).

De forma concomitante, perdas indiretas estão associadas aos gastos elevados com medicamentos e vacinas, além da restrição do trânsito de aves, seus produtos e subprodutos (Johnson et al, 2004).

A LTI é uma doença de distribuição mundial e variação cíclica, ocorrendo em zonas endêmicas, principalmente em áreas de alta densidade populacional e baixas condições de biosseguridade (Dufour-Zavala, 2008, Volkova et al. 2012).

Apesar de o vírus ter sido isolado pela primeira vez no Brasil em 1974, apenas em 2002 a ocorrência da LTI foi notificada oficialmente, quando ocorreu surto em granjas de postura na região de Bastos, SP. Posteriormente, novos focos foram notificados no Paraná, Distrito Federal, Rio Grande do Sul e mais recentemente no Mato Grosso. Em Minas Gerais, a LTI foi notificada pela primeira vez em novembro de 2010, na região denominada Terras Altas da Mantiqueira e desde então o controle da doença tem sido fiscalizado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA).

Entre as medidas de controle da doença está a melhoria da biosseguridade das granjas, o uso de vacina recombinante vetorizadas contra LTI e o controle do trânsito de aves e esterco.

Apesar de a doença ter passado por um período de silêncio, sem notificações de mortalidade ao SVO, novos surtos em Minas Gerais foram notificados em 2016. O aumento da mortalidade, associado à perda econômica levaram os produtores da região a solicitar autorização para introdução da vacina viva atenuada em tecido (TCO) para o controle da doença.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Analisar a vigilância epidemiológica realizada em granjas de galinhas de postura com alta densidade populacional utilizando técnicas laboratoriais, visando determinar a distribuição da infecção e/ou doença causada pelo VLTI.

Estabelecer critérios de biosseguridade para auxiliar no controle da doença, além da avaliação da eficácia das medidas utilizadas.

Fornecer subsídios para ações e/ou ajustes nas normativas estabelecidas pelo Serviço Veterinário Oficial (SVO) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) e demais serviços de defesa estaduais do país.

2.2 Objetivos específicos

Com base na vigilância ativa, verificar se a doença continua a ocorrer na região interditada após a adoção de vacinas recombinantes vetorizadas contra LTI;

Avaliar a taxa de mortalidade em cada lote dentro do período de estudo, associada ou não a surtos de LTI;

Avaliar os efeitos da adoção das medidas de biosseguridade em relação à porcentagem de granjas positivas e a ocorrência da LTI na região;

Avaliar se a infecção e/ou doença está ocorrendo em granjas de postura de média e alta densidade em outras regiões do estado de MG;

Estabelecer critérios para o uso da vacina viva atenuada em cultura de tecido para o controle da LTI nas granjas da região das Terras Altas da Mantiqueira no Sul de MG.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Etiologia

A LTI é causada por um alfa herpesvírus, denominado herpesvírus dos galináceos (do inglês, *Gallid herpes vírus*-1-GaHV-1**)**, membro da subfamília *Alphaherpesvirinae*, familia *Herpesviridae* (*International Committee of Taxonomy of Viruses*, 2018).

O VLTI é composto por uma dupla fita de DNA e apresenta estrutura helicoidal icosaédrica (Guy et al., 2013). O VLTI possui três componentes estruturais: núcleo, capsídeo e envelope. O núcleo é envolto por um capsídeo hexagonal de 80-100 nm. O envelope estrutura mais externa do vírus, apresenta tamanho variável entre 195-250 nm e pode se romper mediante alterações de pH e pressão osmótica, o que torna o vírus sensível ao meio externo (Watrach et al., 1963).

A sobrevivência do VLTI depende não só da quantidade do vírus que contamina o substrato, mas também do pH deste substrato, da exposição do vírus à luz solar e da temperatura a qual ficará submetido. A sobrevivência do vírus é maior quando protegido da luz solar e mantido a baixas temperaturas. Por este motivo, O VLTI pode se manter viável por vários meses quando mantidos a 4°C, enquanto temperaturas mais elevadas (55°C) podem destruir o vírus em até 15 minutos. Embora o VLTI seja sensível ao calor, este pode sobreviver em exsudato traqueal ou em carcaças de aves por até 100 dias, se mantidos entre 13°C a 23°C, principalmente em ambientes escuros (Kingsbury e Jungherr, 1958; Jordan, 1966; Cover, 1996).

O biofilme formado em bebedouros e sistemas de água é outra forma de se manter o vírus viável. Consequentemente, o VLTI pode ser liberado na água, permitindo sua disseminação para hospedeiros susceptíveis. Estudos demonstraram que dois desinfetantes de água de baixo custo e comumente usados, ácido cítrico e hipoclorito de sódio, não removem este biofilme, favorecendo a viabilidade e transmissão do vírus. Em contraste, o bissulfato de sódio e o peróxido de hidrogênio são mais eficazes na remoção do VLTI das linhas de água (Neighbour

et al., 1994, Ou et al., 2011). Também foi demonstrado que o uso de formaldeído e soluções de cresol a 3% podem inativar o VLTI (Guy e Garcia, 2008).

3.2 Epidemiologia

A LTI é uma doença viral aguda que acomete principalmente os galináceos, apesar de também ocorrer em faisões, perdizes e pavão (Crawshaw e Boycott, 1982; Guy et al., 2013). Estudo demonstrou a susceptibilidade dos perus ao vírus da LTI, porém, em infecções experimentais (Winterfield e Gwan So, 1968). Os patos são refratários aos vírus, apesar de anticorpos terem sido detectados (Yamada et al., 1980).

A doença pode ocorrer em aves de qualquer idade, porém as aves de recria, próximas às três semanas de vida, são as mais susceptíveis (Dufour- Zavala, 2008; Guy et al., 2013).

A transmissão ocorre principalmente pela eliminação do vírus em secreções nasal e oral de aves infectadas e que tem contato direto com aves susceptíveis (Johnson et al., 2004). A principal porta de entrada para o VLTI é a mucosa respiratória (Guy et al., 2013).
A transmissão direta favorece uma rápida disseminação do vírus dentro de um mesmo galpão, porém, a disseminação entre galpões é mais lenta, necessitando de alguns meses (Dufour-Zavala, 2008).

Especial atenção deve ser dada às formas indiretas de transmissão do vírus, entre elas equipamentos, aves de vida livre, roedores e animais domésticos que têm livre acesso aos galpões das granjas (Kingsbury e Jungherr, 1958). Carcaças de aves infectadas podem ser carregadas por cães para outras granjas e atuarem como importante fonte de infecção (Dufour-Zavala, 2008).

Outra importante forma de transmissão é o esterco, no qual o VLTI se mantém estável por vários dias. Ao ser transportado, o esterco pode escorrer pelo caminhão, contaminando estradas e propriedades próximas às rodovias. Também há o risco de contaminação de áreas de plantação próximas às granjas susceptíveis quando o esterco é reaproveitado como adubo (Dufour-Zavala, 2008).

A transmissão do VLTI também foi atribuída ao fluxo de funcionários, veterinários e vendedores de insumos que transitam entre granjas infectadas e granjas livres da infecção (Kingsbury e Jungherr, 1958; Johnson et al., 2004). Não há relatos de transmissão do vírus pelo ovo e a transmissão via aves de um dia é considerada insignificante (Guy et al., 2013).

Por se tratar de um herpesvírus, o VLTI tem como principal característica o estabelecimento de latência, fundamental para perpetuação do vírus na natureza. As aves permanecem infectadas por toda a vida. Os principais sítios de latência do VLTI na ave são a traqueia e os gânglios dos nervos trigêmeos (Bagust, 1986).

O vírus em latência pode ser reativado espontaneamente em condições de estresse da ave e ser transmitido de ave para ave (Dufour-Zavala, 2008). Transporte prolongado, oscilações térmicas, manejo inadequado, múltiplas idades dentro de um mesmo galpão, prática de muda forçada e doenças intercorrentes são fatores que influenciam na queda da imunidade da ave e, consequentemente, na reativação do vírus da LTI (Dufour-Zavala, 2008; Buchala 2008).
A ocorrência da LTI também está associada à falha na biosseguridade das granjas, à alta densidade dos lotes de postura e à proximidade das granjas comerciais de criatórios de aves de subsistência (Dufour-Zavala, 2008; Moreno et al., 2010, Volkova et al. 2012).

Trabalhos têm demonstrado que a proximidade de granjas de postura a criatórios de aves de fundo de quintal, aumentam consideravelmente o risco de infecção pelo VLTI (Johnson et al., 2004). Tais criatórios não realizam importantes práticas de manejo, como sistema *all in* e *all out*, limpeza e desinfecção de instalações e vazio sanitário. Diante disso, aves que possam eventualmente estar infectadas e eliminando o vírus em suas secreções se tornam fontes de infecção constante para aves susceptíveis.

3.3 Replicação viral

O VLTI se replica no epitélio respiratório, principalmente na região da laringe e traqueia, porém há relatos de replicação no epitélio da conjuntiva, seios nasais e epitélio pulmonar. Não há indícios de viremia (Bagust et al., 1986, Guy et al., 2013).

A replicação do VLTI inicia quando o vírus se liga à célula do hospedeiro por meio da fusão do envelope com a membrana celular. O nucleocapsídeo é então transferido para a célula hospedeira e transportado até a membrana nuclear que, por meio de seus poros, permite a entrada do vírus no núcleo e a partir daí sua replicação (Guy et al., 2013).

3.4 Sinais clínicos

O período de incubação da infecção natural pelo VLTI varia de seis a quatorze dias e o curso da doença de dez a quatorze dias, podendo chegar ao extremo de vinte e sete dias, conforme a severidade da doença (Jordan, 1966).

A manifestação clínica da LTI tem duas formas principais: grave e leve. A forma grave, na qual ocorre mortalidade de até 70%, é caracterizada por sinais de dificuldade respiratória. As aves ficam ofegantes e apresentam graves sinais respiratórios, como dispneia, tosse, expectoração muco-sanguinolenta, seguidos de morte dois a três dias pós-infecção (Guy et al., 2013). A morbidade na forma grave varia de 90 a 100% e compromete todo o lote (Jordan, 1966).

A forma leve manifesta-se por meio de retardo no crescimento e queda variável na produção de ovos, além de lacrimejamento dos olhos, aumento dos seios infraorbitários, conjuntivite e secreção nasal (Sellers et al., 2004). A morbidade aproxima-se a 5% e a mortalidade varia de 0,1 a 2,0% (Guy e Garcia, 2008). A forma leve da doença tem maior frequência nos surtos de LTI que têm ocorrido nas regiões de alta produção avícola (Guy et al., 2013).

3.5 Lesões macroscópicas

O VLTI infecta primariamente o sistema respiratório superior e, por isso, é comum observar laringite e traqueíte, associadas à produção de muco, edema e congestão do epitélio (Bagust, 1986; Guy et al., 2013). Lesões inflamatórias também podem ser observadas na região dos seios infraorbitários e da conjuntiva (Jordan, 1966; Guy et al., 2013).

Na forma severa da doença, a inflamação da traqueia pode ser visualizada após dois dias de infecção, seguida de degeneração, necrose e hemorragia. O excesso de muco produzido no lúmen da traqueia, associado aos restos celulares e, em alguns casos, a coágulos de sangue, podem formar exsudato denso, geralmente chamado de "tampão" que obstrui as vias respiratórias e provocam a morte das aves. Este processo inflamatório pode se estender aos brônquios e sacos aéreos agravando os sinais respiratórios. (Jordan, 1966; Guy et al., 2013).

3.6 Lesões microscópicas

Lesões características ou mesmo patognomônicas podem ocorrer em todo o epitélio respiratório (conchas nasais, seios infraorbitários, laringe, traqueia, pulmões) e na conjuntiva, embora não necessariamente sejam todos acometidos simultaneamente (Preis et al., 2013). As alterações microscópicas variam conforme o estágio da doença (Jordan, 1966).

Nos primeiros dois dias após a infecção, há perda das células caliciformes e infiltração de células inflamatórias. Com a progressão da doença, as células do epitélio respiratório e da conjuntiva aumentam de volume, tornando-se edemaciadas. A hiperplasia e fusão de células epiteliais formam os sincícios, que são caracterizados por possuir múltiplos núcleos, em geral 15 a 20, podendo chegar a 100 núcleos. O acúmulo de partículas virais forma o corpúsculo de inclusão intranuclear (CI) e sua presença define o diagnóstico da LTI. Os CI podem ser visualizados nas células sinciciais por volta do terceiro dia pós- infecção, porém, à medida que as lesões progridem, com necrose e descamação das células epiteliais, sua visualização fica mais difícil (Hayashi, 1985).

Ao longo do processo de infecção, é possível observar infiltrado de células inflamatórias na lâmina própria da mucosa acometida, entre elas linfócitos, plasmócitos, macrófagos e heterófilos, o que determina espessamento da mucosa e perda de cílios (Guy e García, 2008). No lúmen, há exsudação de fibrina, heterófilos, hemácias e células epiteliais (sincícios) degeneradas ou necróticas (Preis et al., 2013). Hemorragia pode ser observada em casos onde ocorre acentuada destruição do epitélio respiratório e descamação com exposição e ruptura dos vasos sanguíneos (Hayashi, 1985).

À medida que os sincícios vão se desprendendo do epitélio, também pode ser observada perda das células caliciformes e substituição por células jovens indiferenciadas. A partir do quinto dia, as células começam a recuperar o tecido e a mucosa é revestida por epitélio pavimentoso simples. A completa regeneração com recuperação do epitélio pseudoestratificado ciliado e células caliciformes ocorre por volta do décimo sexto dia (Hayashi, 1985).

3.7 Sistema imunológico

A característica morfofuncional do epitélio respiratório é um mecanismo de defesa importante contra agentes infecciosos. A mucosa respiratória é constituída por epitélio respiratório pseudoestratificado ciliado e a excreção de muco pelas células caliciformes funciona como uma barreira física para impedir a infecção pelo vírus (Coppo, 2013).

A destruição do epitélio respiratório provocada pelo VLTI não só rompe a barreira física estabelecida pelo epitélio, mas também favorece a secreção de substâncias, tais como citocinas, que estimulam a resposta inata do organismo.

A resposta inflamatória inata é importante tanto para o controle das lesões provocadas pelo vírus quanto para direcionar a subsequente resposta imune humoral. Tanto a resposta inata quanto a humoral foram identificadas como responsáveis pela proteção contra a LTI. Contudo, há indícios de que a resposta imune celular local na mucosa respiratória tenha mais eficiência no controle da infecção pelo VLTI do que a resposta imune humoral (Coppo, 2013).

3.8 Diagnóstico

Considerando o curto espaço de tempo entre o surgimento dos sinais e a resolução do surto, ter um rápido diagnóstico auxilia efetivamente no controle da doença.

O Código de Saúde de Animais terrestres estabelece que o diagnóstico laboratorial da LTI depende do isolamento do vírus, da demonstração de sua presença ou de seus antígenos e à

detecção de anticorpos específicos. Considera, ainda, que a detecção de células sinciciais e do CI pela histopatologia é um diagnóstico de grande valor (OIE, 2014).

Para atender tais recomendações, os exames utilizados pelo Serviço Veterinário Oficial (SVO) para o diagnóstico da LTI são: sorologia, *Reação em Cadeia da Polimerase* (PCR) convencional ou quantitativo, cultura celular para o isolamento viral e imuno-histoquímica (IHQ). A histopatologia é a técnica responsável por diferenciar a infecção da real ocorrência da doença baseado nas lesões patognomônicas. A obtenção do vírus ou do DNA viral é importante para a caracterização viral (Preis et al., 2013).

3.8.1 Histopatologia

Os achados histopatológicos são baseados na formação e descamação de sincícios epiteliais contendo CI intranucleares. Estes ocorrem no epitélio da laringe e traqueia, conchas nasais, brônquios e da conjuntiva. É possível visualizar também células inflamatórias, necrose e hemorragia (Hayashi, 1985; Guy e Garcia 2008; Preis et al., 2013). As lesões típicas e a presença do CI são consideradas achados confirmatórios para a doença (Preis et al., 2013).

A histopatologia realizada na fase aguda da doença, três a seis dias após a infecção, associada à presença de lesões características, células sinciciais e CI intranucleares definem o diagnóstico da doença.

A marcação da proteína gJ viral no citoplasma de células aparentemente normais, pela IHQ, funciona como uma técnica complementar para o diagnóstico de LTI (Preis et al., 2013).

3.8.2 Sorologia

Anticorpos contra o VLTI podem ser detectados por soro neutralização, imunodifusão em ágar gel, imunofluorescência indireta e ELISA *(*ensaio de imunoabsorção enzimática). O teste de ELISA é utilizado no monitoramento de planteis, a fim de detectar aves infectadas uma vez que possui alta sensibilidade (OIE, 2014). Estudos demostraram o aparecimento de anticorpos humorais contra o VLTI por 4-5 dias pós infecção experimental (Bagust et al., 1986).

A LTI foi descrita como antigenicamente homogênea, com apenas um único sorotipo reconhecido. Portanto, uma vez que um lote tenha sido vacinado com uma estirpe atenuada de VLTI, é difícil determinar posteriormente, por meio de testes sorológicos, se as aves foram infectadas por vacina ou estirpes de campo virulentas. Por sua vez, estudos indicam que nenhuma das vacinas recombinantes vetorizadas provocou uma resposta de anticorpos que fosse detectável por um kit de ensaio imunoabsorvente ligado à enzima VLTI comercial (ELISA) (Coppo, 2013).

3.8.3 Cultura e isolamento do vírus

O vírus permanece poucos dias na mucosa respiratória antes de migrar para os gânglios trigêmeos, cerca de seis a oito dias após infecção. É recomendado que a coleta de amostras para isolamento viral seja feita em aves no estágio agudo da doença. Amostras de traqueia, pulmão e conjuntivas são utilizadas na detecção do VLTI por serem órgãos-alvo envolvidos no ciclo de replicação e infecção do vírus (Bagust et al., 1986, OIE, 2014).

3.8.4 Reação em Cadeia pela Polimerase - PCR

A técnica de PCR mostrou-se mais sensível que a técnica de histopatologia e IHQ para a detecção da infecção. A sensibilidade da histopatologia pode ser baixa quando a ave é examinada na fase crônica da doença, devido à descamação das células sinciciais com CI (Preis et al., 2013).

A técnica de PCR também se demonstrou específica para o vírus da LTI por meio do sequenciamento do DNA viral (Chacón e Ferreira, 2009). A técnica de PCR é capaz de distinguir as estirpes vacinais das estirpes de campo (Moreno et al., 2010, Preis et al., 2013, Couto, 2015).

Cuidado deve ser tomado para a distinção entre a infecção pelo VLTI e a ocorrência da doença. Os testes moleculares não conseguem discriminar a viabilidade do vírus e se naquele momento a ave realmente está doente, uma vez que o VLTI tem como característica a

capacidade de latência no gânglio dos nervos trigêmeos e na traqueia (Bagust, 1986). A partir destes diagnósticos é possível apenas afirmar que houve a infecção pelo vírus. O diagnóstico da doença LTI será definido exclusivamente pelas lesões histológicas com células sinciciais contendo CI intranucleares típicos. Os testes realizados de forma isolada, não associados a sinais clínicos e lesões, confirmam a infecção, mas não permitem diferenciar a doença da infecção latente (Coppo, 2013).

3.9 Diagnóstico diferencial

As doenças que provocam sinais respiratórios são as principais causas de perdas econômicas na avicultura. Dessa forma, o diagnóstico preciso de qual doença está acometendo as aves é de fundamental importância para que medidas corretas de controle e prevenção sejam adotadas para diminuir estas perdas.

Entre as doenças que podemos considerar como importantes diagnósticos diferenciais para LTI estão: influenza aviária, doença de Newcastle, bronquite infecciosa, bouba diftérica, coriza infecciosa, micoplasmose e pasteurelose (Guy et al., 2013, Couto, 2014, Santos, 2019).

3.10 Controle e prevenção

A LTI não possui tratamento e, por isso, implementar medidas eficazes de biosseguridade e um protocolo vacinal adequado são as principais formas de controle da doença (Dufour-Zavala, 2008).
Por definição, biosseguridade é um conjunto de medidas físicas e de gestão destinadas a reduzir o risco de introdução, estabelecimento e disseminação de doenças, infecções ou infestações dentro de uma população animal (OIE, 2014).

Os procedimentos de biosseguridade incluem efetiva separação entre área limpa e contaminada, isolamento dos galpões, limpeza e desinfecção das instalações, uso de uniformes pelos funcionários, restrição do fluxo de pessoas dentro da área de produção, controle de pragas, além de estabelecer rota para o trânsito de aves de descarte (Dufour-Zavala, 2008).

Mediante ocorrência de um surto de LTI, medidas como descontaminação de roupas e equipamentos, destruição de aves mortas, tratamento de esterco e o efetivo controle de pragas e roedores devem ser considerados como prioridade no controle da doença (Kingsbury e Jungherr, 1958).

Uma vez contaminada, a granja precisa receber certos cuidados para que a doença seja controlada e o vírus não se dissemine para outras propriedades (Menendez, 2014). Na impossibilidade de ser realizada a eutanásia das aves, com subsequente limpeza e descontaminação das instalações e vazio sanitário, zonas de vacinação deverão ser estabelecidas. Dois tipos de vacinas têm sido utilizadas no controle da LTI: vacina viva atenuada e vacina recombinante vetorizada (Garcia, 2017).

3.10.1 Vacina viva atenuada

As vacinas vivas atenuadas começaram a ser utilizadas como ferramentas de controle da LTI na década de 60. Os vírus que compõem estas vacinas são atenuados após múltiplas passagens em ovos embrionados, do inglês *chicken embryo origin* (CEO), ou após múltiplas passagens em cultura de tecido, do inglês *tissue culture origin* (TCO) (Garcia, 2017).

O uso da vacina viva atenuada é considerado um método satisfatório para o desenvolvimento de resistência em aves susceptíveis à infecção pelo VLTI e, por isso, a vacina tem sido usada tanto para a prevenção da doença, quanto para o controle de surtos (Guy e Garcia, 2008; Menendez, 2014).
As vacinas vivas atenuadas, em particular a CEO, podem facilmente reverter a virulência após múltiplas passagens de ave para ave e provocar novos surtos (Garcia, 2017). A susceptibilidade a novos surtos está relacionada à falha na administração da vacina, falha na cobertura vacinal e também às falhas na biosseguridade (Guy et al., 1991).

Foi demonstrado que após 10 passagens do vírus em galinhas SPF, ocorre o aumento da virulência. Esta foi comprovada pelo aumento na mortalidade, severidade e duração de sinais respiratórios em aves vacinadas com a vacina CEO (Guy et al., 1990). Testes semelhantes

demonstram que após 20 passagens do vírus em aves SPF, a vacina TCO causou sinais respiratórios leves (Guy et al., 1991).

O uso irrestrito da vacina viva, particularmente em áreas de intensa produção de frangos de corte dos Estados Unidos, associado à baixa cobertura vacinal, falhas na biosseguridade e efeitos concomitantes de outras doenças respiratórias, diminuíram a eficácia da vacina CEO, além de favorecer a reversão de virulência e o estabelecimento de latência em aves aparentemente saudáveis (Johnson et al., 2010).

A vacina CEO é a única que pode ser aplicada de formal massal, por meio da água de bebida. Porém, quando não alcança o lote de forma uniforme pode predispor a reversão de virulência e consequente infecção das aves susceptíveis (Guy et al., 1991).

A vacina TCO tem sido menos relacionada à reversão de virulência quando comparada a vacina CEO. Contudo, a vacina TCO é aplicada somente via gota ocular, o que torna sua administração laboriosa (Dufour-Zavala, 2008).

A vacina viva atenuada é recomendada apenas para regiões onde a doença é enzoótica, uma vez que estirpe vacinal pode provocar infecções latentes (Guy et al., 2013).

3.10.2 Vacina recombinante vetorizada

Em função dos surtos de LTI associados a cepas vacinais que persistiram no campo e recuperaram a virulência, uma nova geração de vacinas recombinantes foi desenvolvida utilizando como vetores o *Avipoxvirus Fowlpox* (FPV) e o *Meleagrid herpesvirus 1 dos perus* (HVT), dando origem às vacinas FPV-LT e HVT-LT respectivamente. Por não conterem vírus vivo e, consequentemente, por serem incapazes de transmitir vírus de uma ave para outra, reverter virulência e estabelecer infecções latentes, as vacinas recombinantes são mais seguras (Johnson et al., 2010, Vagnozzi, 2012, Menendez, et al., 2014).

A HVT-LT é aplicada no subcutâneo de aves de um dia de idade, ainda no incubatório. A vacina FPV-LT é aplicada na membrana da asa de aves de oito semanas de idade (Johnson et al., 2010).

As vantagens proporcionadas pela vacina recombinante estariam na sua capacidade de criar proteção contra a manifestação de sinais clínicos e mortalidade, na redução de replicação viral na traqueia, além da prevenção contra febre e perda de peso (Johnson et al., 2010).

Entretanto, evidências de campo indicaram que em regiões de forte desafio, as vacinas recombinantes falharam na proteção total contra a LTI. Foi sugerido que a incapacidade das vacinas recombinantes se replicarem na traqueia e, consequentemente, induzirem uma forte resposta imune local, pode ser a razão pela qual essas vacinas fornecem proteção parcial e não podem abolir a replicação do vírus na traqueia. No entanto, em regiões com desafio leve a moderado, essas vacinas têm sido eficientes e fornecem uma alternativa mais segura do que o uso contínuo de vacina viva atenuada (Johnson et al., 2010).

Estudos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver tanto as vacinas vivas atenuadas quanto as vacinas recombinantes (Garcia, 2017). Contudo, um programa vacinal para o controle da LTI, independente de qual tipo de vacina utilizar, apenas será eficiente se a cobertura vacinal for satisfatória e as condições mínimas de biosseguridade forem respeitadas (Dufour-Zavala, 2008).

3.11 Distribuição geográfica do VLTI

3.11.1Distribuição mundial

O primeiro relato de LTI, realizado por May e Tittsler, descreveu um surto ocorrido em *Rhode Island* (EUA), em 1923. Neste surto as aves apresentavam sinais de doença respiratória seguidos de morte (Jordan, 1966). A partir deste relato, outras notificações da doença foram feitas no Canadá, Austrália, Inglaterra e Europa (Jordan, 1966; Cover, 1996). A figura 1 apresenta em ordem cronológica as primeiras notificações de LTI que ocorreram em todo o mundo entre os anos de 1923 e 1965, demonstrando o potencial de disseminação do vírus.

Desde 1923, a LTI impacta negativamente a indústria avícola mundial. As formas leve ou severa da doença têm sido descritas em todo mundo, principalmente quando associadas à

criação intensiva de galinhas de postura em gaiolas e com alta densidade. (Dufour-Zavala, 2008; Moreno et al., 2010).

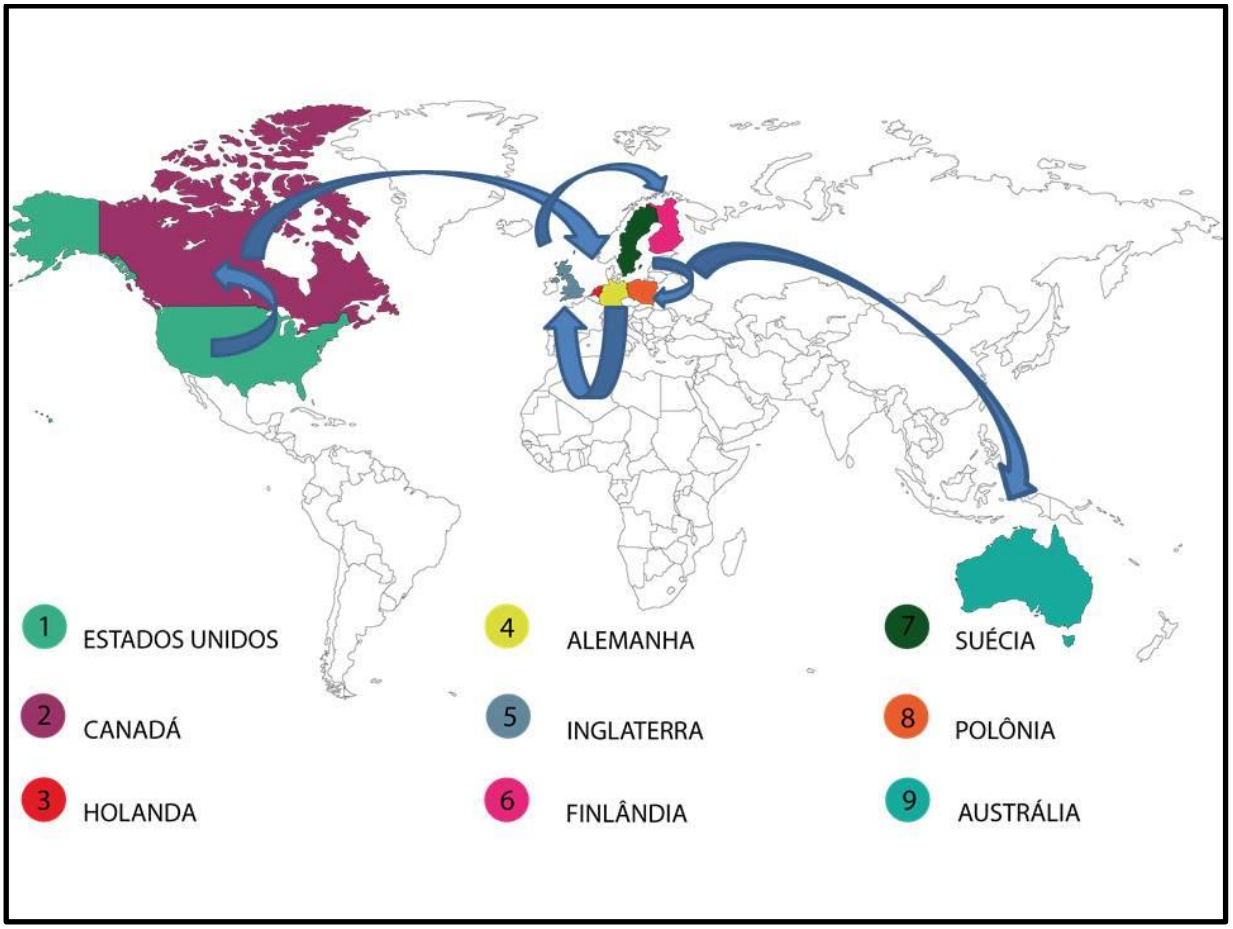


Figura 1. Países que notificaram a ocorrência da LTI entre os anos de 1923 e 1965. Os números indicam a ordem cronológica das notificações. Fonte: Jordan, 1966; Cover, 1996.

A LTI faz parte do grupo de doenças que requerem declaração oficial de sua ocorrência à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e pode servir de barreira para a exportação de produtos e subprodutos. No Brasil, a doença faz parte da lista de doenças que requerem notificação imediata de qualquer caso suspeito ao SVO (BRASIL, 2013).

A figura 2 representa a distribuição da LTI no mundo, em quatro períodos distintos e demonstra que nos últimos anos, a LTI esteve presente em países de todos os continentes (OIE, 2019).

Dois fatores têm contribuído para que a LTI se mantenha endêmica em todo o mundo: a capacidade de latência do vírus e o uso de vacinas vivas atenuadas. Situações de estresse das aves, tais como manejo e instalações inadequadas, início da produção de ovos e a ocorrência concomitante de outras doenças, podem reativar a replicação do VLTI na ave proporcionando novos surtos em determinada região (Dufour-Zavala, 2008).

Ademais, a doença que foi inicialmente controlada pelo uso das vacinas vivas atenuadas CEO e TCO, tem sido associada a surtos provocados pela reversão de virulência após consecutivas passagens do vírus vacinal em aves susceptíveis, principalmente quando alojadas em áreas de baixa biosseguridade (Dufour-Zavala, 2008; Guy e Garcia 2008). Além disso, o uso de vacina viva atenuada pode ter contribuído para o surgimento de diferentes estirpes, consequentes de recombinação do vírus de campo e vacinal (Coppo, 2013).

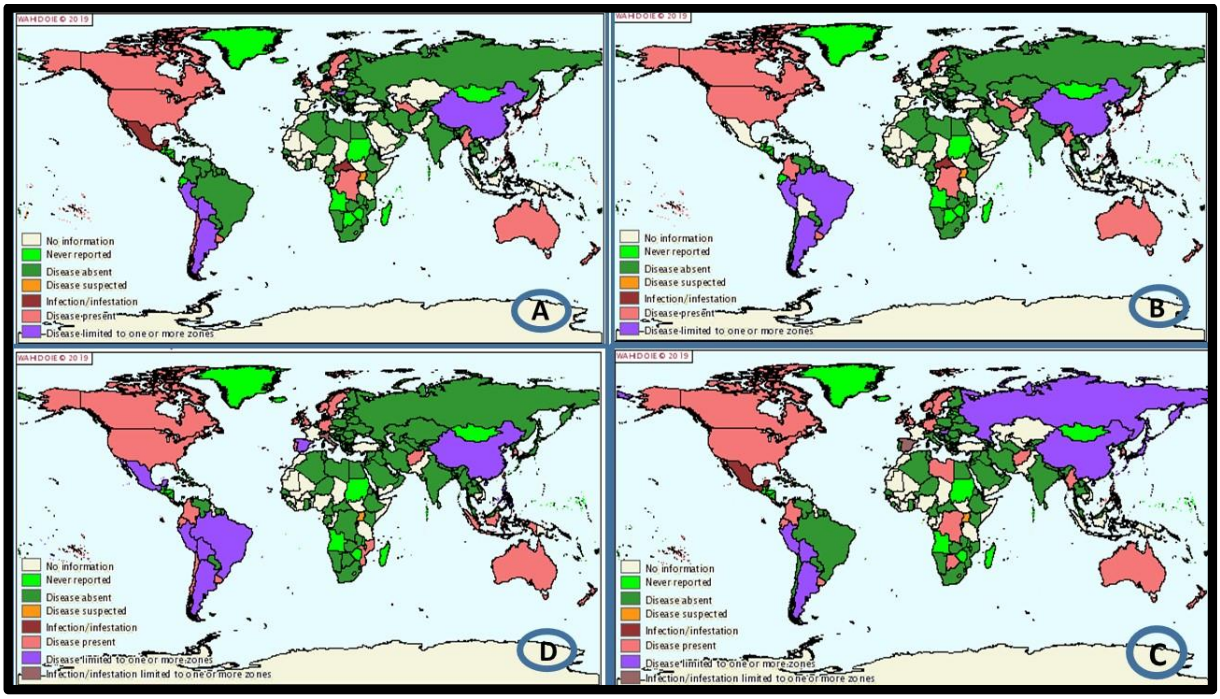


Figura 2. Distribuição da LTI no mundo. Em sentido horário: A. primeiro semestre de 2010, quando a doença ainda não tinha sido diagnosticada em MG. B. Segundo semestre de 2010, após notificação do surto da LTI na região das Terras Altas da Mantiqueira. C. Segundo semestre de 2013, quando a doença passou por um período sem notificação. D. Primeiro semestre de 2016, quando a doença voltou a ser notificada no país. A cor verde escura indica a ausência da doença. A cor lilás indica que a doença está limitada a uma ou mais zonas e a cor rosa indica que a doença está presente naquele país. Fonte: OIE, 2019

3.11.2 Distribuição no Brasil

No Brasil, o primeiro isolamento do VLTI foi realizado em 1973, no estado do Rio de Janeiro, em aves que apresentavam sinais respiratórios e traqueíte hemorrágica (Hipólito et al., 1974).

Posteriormente, também no estado do Rio de Janeiro, o VLTI foi isolado em aves de corte (Soares et al.,1980) e, em seguida, novo surto da doença foi relatado (Araujo et al., 1982). Um estudo soroepidemiológico no Rio Grande do Sul revelou a presença do VLTI em aves de corte e de postura (Vargas, 1995) e outro estudo demonstrou soroprevalência da LTI em propriedades não tecnificadas de 10 regiões rurais do DF (Tocantins, 2014).

Entretanto, o isolamento do VLTI foi oficialmente notificado pela primeira vez no país em 2002, quando ocorreu um surto em galinhas de postura na região de Bastos, no estado de São Paulo. Este surto afetou 168 granjas. Destas, em 113 granjas foram identificadas aves que apresentavam sinais respiratórios, entre eles aves com bico aberto, respiração ofegante, estertores, tosse, redução de apetite, além de queda de postura. As aves acometidas estavam restritas à parte dos galpões das granjas que sofreram com a queda de produtividade associada à alta mortalidade (Buchala, 2008).

Após o surto de LTI em São Paulo, em 2002, novas notificações foram realizadas. A figura 3 apresenta o número de focos notificados à OIE pelo Brasil, no período de 2008 a 2018.

Em Minas Gerais, a primeira notificação da doença ocorreu em novembro 2010, em região denominada Terras Altas da Mantiqueira.

O Escritório seccional de Itamonte, unidade veterinária local responsável pelas granjas de postura comercial localizadas nos municípios de Itamonte, Itanhandu, Pouso Alto e Passa Quatro, foi notificado de uma suspeita de LTI fundamentada em sinais clínicos, lesões anatomopatológicas e no aumento da mortalidade das aves (Preis et al., 2013).

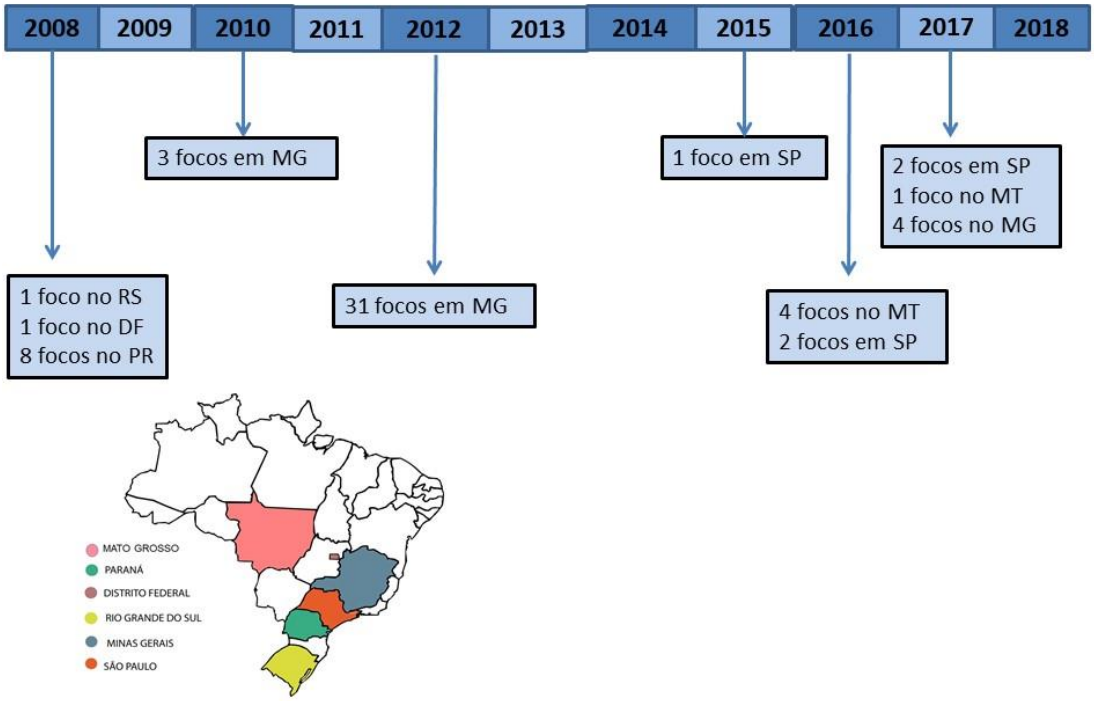


Figura 3. Notificações oficiais à OIE de surtos que ocorreram no Brasil no período de 2008 a 2018. Fonte: OIE, 2019

Como a LTI era classificada como exótica no estado de Minas Gerais, a notificação desta suspeita foi considerada uma emergência sanitária. Iniciou-se um processo de investigação epidemiológica. Após o conhecimento de todas as propriedades envolvidas na suspeita da doença, foram adotadas medidas de controle, como interdição e vistoria das propriedades, coleta de material, fiscalização em barreiras fixas e móveis do trânsito de aves, ovos e esterco. Doze granjas, dentre as 27 cadastradas, continham aves com sinais clínicos respiratórios sugestivos de LTI, entre eles, dispneia, secreção nasal, aumento de volume dos seios infraorbitários e conjuntivite. Desde o início da ocorrência, o número de aves doentes variou consideravelmente de uma granja para outra e até mesmo de um galpão para o outro. Simultaneamente às primeiras vistorias, foi realizada análise de todo o trânsito de entrada e saída de aves da região das Terras Altas da Mantiqueira no ano de 2010. A partir desta análise, verificou-se que três propriedades localizadas no município de Pedralva, distante 70 km de Itamonte, se destacavam como importante vínculo epidemiológico no surto, pois forneciam aves recriadas para a região do foco, demonstrando uma interdependência muito

grande entre as granjas. Estas granjas foram interditadas para investigação. O vírus da laringotraqueite infecciosa também foi diagnosticado nas granjas de recria de Pedralva. O diagnóstico final da ocorrência da LTI no sul de MG foi estabelecido considerando os achados clinicoepidemiológicos, as lesões identificadas nas necropsias, os resultados positivos nas técnicas de sorologia, PCR, isolamento viral e pela histopatologia. Considerando a proximidade entre as granjas e a ausência de isolamento entre elas, a Nota Técnica DSA n ° 91, de 17 de dezembro de 2010, oficializou o resultado positivo da LTI e criou o Bolsão das Terras Altas da Mantiqueira por entender que se tratava de uma única unidade epidemiológica (Hergot, 2012).

Por definição, unidade epidemiológica designa um grupo de animais com relação epidemiológica e a mesma probabilidade de exposição a um patógeno, seja porque compartilha o mesmo espaço, seja porque pertencem à mesma exploração (OIE, 2014).

Desde então, o SVO do estado de MG tem realizado ações de controle da doença na região das Terras Altas da Mantiqueira. A figura 4 mostra os cinco municípios relacionados na Nota Técnica DSA n ° 91.

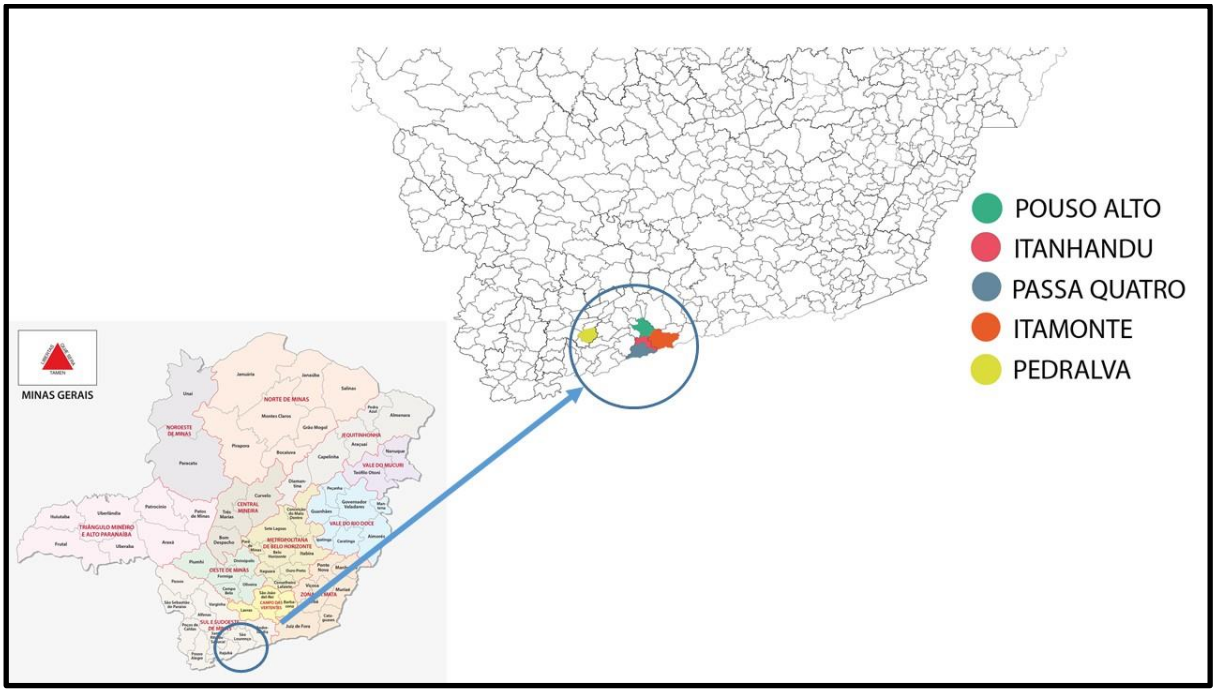


Figura 4. Mapa de localização dos cinco municípios envolvidos na ocorrência da LTI em Minas Gerais: Itamonte, Itanhandu, Passa Quatro, Pouso Alto e Pedralva. Fonte: BRASIL, 2010

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Ações de controle da LTI no estado de MG

Minas Gerais possui 1.590 granjas de frango de corte, 221 granjas de postura comercial e 32 granjas de reprodução. Diante disso, é considerado um importante polo de avicultura industrial.

Em novembro de 2010 ocorreu uma epidemia de LTI na região das Terras Altas da Mantiqueira, região de grande importância na produção de ovos no estado de MG. Desde então O IMA vem realizando várias ações de controle desta doença, que causa impacto na produtividade e no comércio dos produtos e aves.

Ao longo dos últimos anos, o SVO realizou o controle sanitário das granjas pertencentes à região das Terras Altas da Mantiqueira e também das granjas que possuíam vínculo com a área interditada. Para monitorar a ocorrência da laringotraqueite infecciosa foram realizadas vistorias para verificar a presença de aves com sinais clínicos respiratórios sugestivos de LTI, e por meio de vigilância passiva e ativa, coletou-se material para investigar a presença do vírus ou a ocorrência da doença.

De forma paralela, foram planejadas ações de controle do trânsito das aves de descarte e de esterco produzido pelas granjas da área interditada.

4.2 Inquérito soroepidemiológico e clínicopatológico na região das Terras Altas da Mantiqueira

O surto que gerou a notificação ao IMA em novembro de 2010 ocorreu no Sul de Minas Gerais, em uma região denominada Terras Altas da Mantiqueira, compreendendo os municípios de Itamonte, Itanhandu, Passa Quatro, Pouso Alto e Pedralva.

Considerando que em setembro de 2016 as granjas de recria localizadas em Pedralva deixaram de fazer parte da região de foco das Terras Altas da Mantiqueira, inquérito soroepidemiológico e clínicopatológico foi realizado nas granjas de postura pertencentes à Itamonte, Itanhandu, Passa Quatro e Pouso Alto.

Este inquérito foi baseado em coletas de amostras para exames laboratoriais, análise de dados de mortalidade e na avaliação das medidas de biosseguridade implantadas nas granjas.
O objetivo foi avaliar a influência das medidas para o controle da doença, e a situação epidemiológica relacionada às aves infectadas de forma latente na região interditada.

4.2.1 Coletas de amostras

Para avaliar a ocorrência da infecção e/ou doença, foi realizado estudo transversal em 100% das granjas da área interditada. Foram duas etapas de coleta: a primeira em novembro de 2016 e a segunda em outubro de 2017. Cada etapa foi realizada no período de uma semana. Em cada uma delas, foram amostradas aves de todas as granjas que possuíam aves alojadas nos respectivos períodos de coleta.

Na coleta realizada em novembro de 2016, vinte e duas granjas estavam com aves alojadas. Em outubro de 2017, vinte e quatro granjas estavam com aves alojadas. Para a identificação neste estudo, as granjas foram numeradas de 1 a 24 de forma aleatória, à medida que as coletas foram realizadas. A figura 5 demonstra a localização das granjas que participaram do inquérito.

A unidade amostral considerada no estudo foi a granja. O tamanho da amostragem não considerou o número de aves alojadas em cada granja. Por se tratar de uma doença respiratória com alta taxa de morbidade e pela grande proximidade entre os galpões, optou-se por coletar amostras de 10 aves por granja seguindo o padrão dos inquéritos oficiais realizados pelo MAPA. Também foram consideradas as limitações técnicas, éticas e econômicas para a eutanásia das aves.

Preferencialmente foram amostradas aves provenientes de lotes com sinais clínicos de doença respiratória. Na ausência de sinais clínicos, a seleção de cada lote na granja foi aleatória.

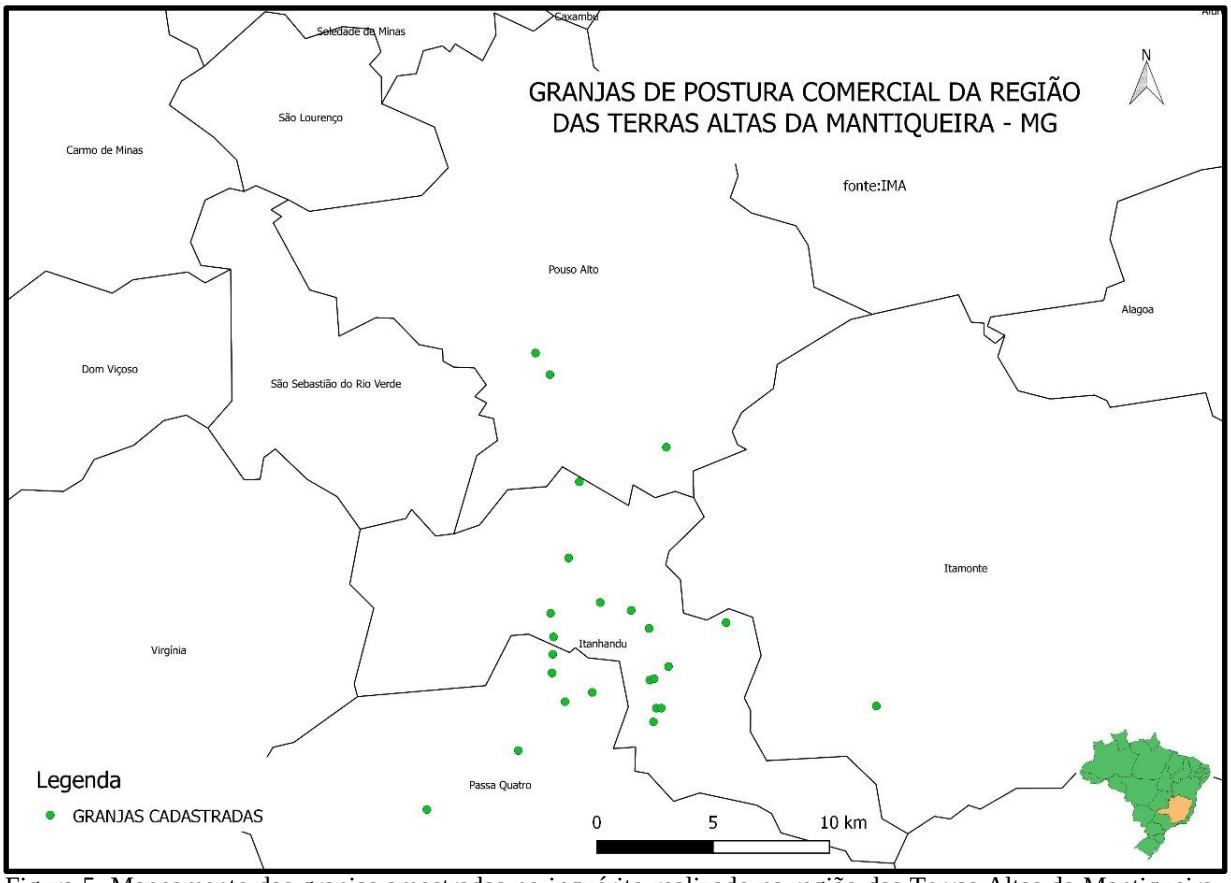


Figura 5. Mapeamento das granjas amostradas no inquérito realizado na região das Terras Altas da Mantiqueira nos anos de 2016 e 2017, utilizando o *software* QGIS. Fonte: IMA, 2019

Incialmente foi realizado o exame clínico das aves selecionadas e, em seguida, os suabes de traqueia e coleta de soro. Os suabes foram reunidos em um pool de cinco unidades e acondicionados em frascos contendo meio BHI (*brain heart infusion*) e mantidos a -20°C.

Amostras de 3 ml de sangue total foram coletadas da veia ulnar, com agulhas e seringas plásticas estéreis individuais de 5 ml. Posteriormente, estas amostras foram armazenadas em tubos de coleta de 5 ml sem anticoagulante, refrigeradas em uma caixa de isopor e encaminhados no mesmo dia para o escritório do IMA-MG da cidade de Itamonte. O sangue total foi armazenado a -4ºC por 24 horas e posteriormente foi centrifugado até que ocorresse a separação entre sangue e soro. O soro foi então transferido para um microtubo estéril de 1,5 ml e armazenado a -20ºC.

Após coleta de sangue e realização de suabes, as aves foram submetidas à eutanásia pelo método de deslocamento cervical. Foi realizada a necropsia para exames macroscópicos e subsequente coleta de amostras.

Para o exame molecular (qPCR) e isolamento viral, foram coletados a porção medial da traqueia fechada, os gânglios dos nervos trigêmeos, além dos suabes de traqueia anteriormente mencionados. Para a coleta dos gânglios, as pinças, tesouras e alicates foram higienizados com água e detergente e em seguida mergulhados em álcool, antes da coleta individual de cada órgão, para evitar contaminação cruzada. Os tecidos foram armazenados individualmente em microtubos e congelados a -20º C.

Para o exame histopatológico foram coletadas de cada ave a laringe, porção inicial e final da traqueia, pulmões, conjuntiva e concha nasal. As amostras foram fixadas em formol tamponado neutro a 10%.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), com o número de protocolo 78/2014, juntamente com os termos de consentimento dos proprietários ou responsáveis pelas granjas.

4.2.2 Processamento das amostras

As amostras coletadas foram processadas nos Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária em Campinas ((LFDA-SP) e em Pedro Leopoldo (LFDA-MG) e nos Laboratórios do setor de Patologia Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV/UFMG).

4.2.2.1 LFDA- SP em Campinas

Neste laboratório foram realizadas as técnicas de sorologia, qPCR e isolamento viral. Para isso, foram encaminhadas amostras de soro, porção medial de traqueia, gânglios trigêmeos e pools de suabes de traqueia, todos armazenados a -20°C.

Os exames sorológicos para detecção de anticorpos contra o VLTI foram realizados por ensaio de imunoabsorção enzimática indireto (ELISA) segundo instruções do fabricante do kit comercial CIVTEST AVI ILT (Hipra®, Espanha)

4.2.2.2 Laboratórios de Patologia Animal e Molecular EV-UFMG

Os tecidos fixados em formol foram clivados, processados e emblocados em parafina nos laboratórios do setor de Patologia Animal da EV-UFMG, de acordo com os procedimentos convencionais de laboratório.

4.2.2.3 LFDA-MG em Pedro Leopoldo

No Laboratório de Patologia Veterinária do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária em Minas Gerais (LPV/LFDA-MG) em Pedro Leopoldo foram confeccionadas e avaliadas as lâminas para o exame histopatológico dos inquéritos de 2016 e 2017. As amostras do inquérito de 2016 também foram processadas em emblocadas no LPV/LFDA-MG.

Os tecidos foram desidratados em séries crescentes da concentração de etanol, diafanizados em xilol, embebidos em parafina para obter cortes seriados de 4 μm de espessura, os quais forma corados com hematoxilina e eosina (HE) e analisados em um microscópio de luz comum. De cada ave, foram confeccionadas de três a quatro lâminas histológicas contendo cortes da laringe, traqueia, pulmão, conjuntivas e conchas nasais, totalizando 1.815 lâminas. Os tecidos foram examinados em microscopia de luz comum, para observação de presença ou ausência de lesões típicas de LTI.

4.2.3 Análise de dados

Os dados epidemiológicos foram obtidos durante as vistorias realizadas pelo SVO às granjas envolvidas e por meio de boletins sanitários encaminhados mensalmente pelos RT's das granjas ao longo do período estudado. Tais boletins tinham informações essenciais para a análise epidemiológica como mortalidade mensal, densidade de alojamento, exames complementares, diagnóstico de outras doenças, uso de vacina contra LTI, além de dados sobre as instalações das granjas, manejo das aves e procedimentos realizados pelos médicos veterinários responsáveis técnicos pelas granjas.

4.2.3.1 Análise da taxa de mortalidade

A taxa de mortalidade de dezesseis granjas foi analisada mensalmente no período de janeiro de 2016 a setembro de 2018. Não foi possível analisar os dados das granjas que encerraram as atividades antes de setembro de 2018.

Para a avaliação mensal, a taxa de mortalidade foi calculada para todos os lotes alojados naquele mês, em todas as granjas avaliadas para verificar os menores e maiores índices ocorridos no período de estudo.

4.2.3.2 Análise da biosseguridade

A análise da biosseguridade da região das Terras Altas da Mantiqueira foi realizada por meio de questionário aplicado pelos fiscais agropecuários (veterinários do Serviço Oficial do Estado) em 2010, considerado como período pré-ações de controle do SVO (pré-CSVO), e repetido em 2018, período pós-ações de controle do SVO (pós-CSVO). Foram atribuídos escores de zero a três para cada fator avaliado. Sendo considerado 0= ausente, 1= insuficiente, 2= mínimo aceitável e 3= ideal.

Foram avaliados 23 fatores no questionário, que estão apresentados na tabela 10. O indicador de biosseguridade para cada propriedade (IB) da área de foco foi baseado no somatório de pontos recebidos em cada item, para cada granja, em 2010 e 2018. Portanto, com variação de

zero a 69 pontos. Assim, considera-se Zero a nota de uma granja sem nenhuma medida de biosseguridade e 69 a nota de uma granja com todas as medidas de biosseguridade exigidas pelo SVO atendidas na forma ideal. A diferença entre os escores nos períodos 2010 (pré-CSVO) e 2018 (pós-CSVO), anterior e posterior as medidas de educação sanitária e exigências do SVO determinou o "Incremento de Biosseguridade" (IncB) para cada granja. Foi feito teste de Wilcoxon para testar se os IB por granja nos dois períodos poderiam ser considerados significativamente diferentes.

Os IB e IncB não apresentaram distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Ysmirnov ($p<0,05$). Dessa forma, para analisar o incremento de biosseguridade geral da área do foco, foi calculada mediana e quartis. A mediana dos IB foi considerada o Indicador de Biosseguridade Geral (IBG) e a dos IncB, o Incremento Geral (IncBG) da área de foco para obter uma avaliação compilada.

Foi testada a correlação bivariada de Spearman entre os IB 2010, 2018 e IncB.A distribuição entre as granjas, de cada critério levantado no questionário, foi avaliado separadamente para avaliar quais parâmetros de biosseguridade demonstraram melhoria, ou seja, se a alteração foi considerada positiva (P), se manteve inalterada (I) ou regrediu, considerando uma situação negativa (N) no período de 2010 a 2018.

As análises estatísticas foram realizadas por meio dos softwares *SAS 9.4, R* e *SPSS 20*. Para todos os testes de hipótese foi considerado o nível de significância de 5%. Os mapas da distribuição espacial foram feitos em *software* de geoprocessamento denominado QGIS.

4.3 Inquérito epidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas como risco para LTI

Um segundo inquérito foi realizado em granjas consideradas como risco para a ocorrência da LTI, localizadas em área externa à região das Terras Altas da Mantiqueira. O objetivo deste inquérito foi verificar se a condição de aves doentes ou infectadas poderia estar ocorrendo em regiões externas à área interditada.

A seleção das granjas amostradas neste inquérito foi baseada principalmente nos seguintes critérios: granjas com alta densidade, granjas que possuíam vínculo com frigoríficos que recebiam as aves de descarte e granjas com baixo nível de biosseguridade.

Esta etapa foi realizada em abril de 2018. Foram critérios de inclusão das granjas: alta densidade (acima de 50.000 aves alojadas), possuir vínculo com o frigorifico de descarte das aves e possuir baixo nível de biosseguridade.

Foram amostradas aves de treze granjas, pertencentes a nove municípios do estado de MG, e identificadas com as letras de A-M conforme mostra a tabela 1. A figura 6 demonstra a localização destas granjas.

Tabela 1. Granjas selecionadas para o inquérito soroepidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas como risco para LTI. Fonte: IMA, 2019.

ID granja	Município	Nº de núcleos	N° de Galpões	Capacidade de Alojamento
A	Lavras	1	21	178.632
B	Nepomuceno	1	48	1.380.200
C	Santo Antônio do Monte	3	11	160.000
D	Santo Antônio do Monte	1	4	49.700
E	Santo Antônio do Monte	2	3	70.000
F	Santo Antônio do Monte	1	7	85.971
G	Divinópolis	1	13	450.000
H	Divinópolis	2	12	220.000
I	Patrocínio	1	3	34.500
J	Montes claros	28	189	2.640.500
K	Guarani	1	1	27.000
L	Ouro fino	1	17	85.000
M	Viçosa	1	4	45.000

A amostragem das coletas para o inquérito soroepidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas como risco para LTI seguiram o mesmo padrão de 10 aves por granja.

Foram coletadas amostras de soro e suabes de traqueia. Amostras foram processadas e conservadas conforme descrito no item 4.2.1 e encaminhadas para processamento no LFDA-SP de Campinas.

Considerando a ausência de histórico de sinais clínicos de doença respiratória e de alteração de mortalidade, associados a ausência de sinais clínicos de doença respiratória no dia da coleta, as aves não foram submetidas à eutanásia para exame macroscópico e coleta de material para histopatologia.

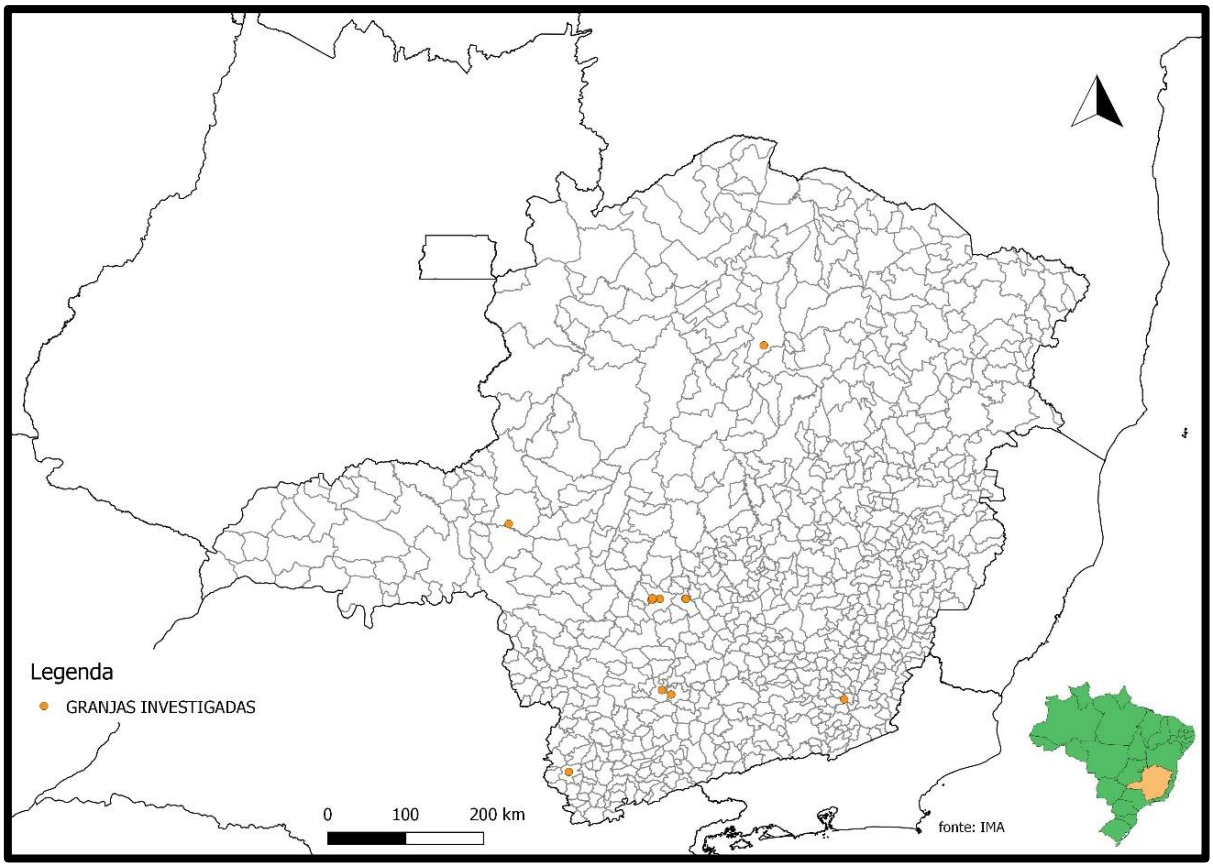


Figura 6. Localização das granjas que participaram do inquérito soroepidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas como risco para LTI, utilizando o *software* QGIS. Em função da escala utilizada para fazer o mapa, as granjas de Santo Antônio do Monte e Divinópolis ficaram sobrepostas umas às outras. Fonte: IMA, 2019.

Com relação ao exame sorológico, foram realizados retestes com 80 amostras de soro de aves de três das trezes granjas que participaram deste inquérito. As amostras para o exame sorológico (reteste em três granjas) por ensaio de imunoabsorção enzimática indireto (ELISA) foram processadas no Laboratório de Retroviroses no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da EV/UFMG. As amostras de soros coletadas foram submetidas ao ELISA indireto utilizando um teste comercial ILTV Antibody Test Kit (CK124 ILT Biochek®, Holanda) e a metodologia foi realizada conforme instruções do fabricante. Foi utilizado uma placa de 96 poços, onde as amostras foram diluídas individualmente em um diluente,

fornecido pelo kit, na concentração de 1:500. Nos poços A1 e B1 da placa foram adicionados 100 µl de solução de diluição, nos poços C1 e D1 foram adicionados 100 µl do controle negativo e nos poços E1 e F1 foram adicionados 100µl de controle positivo, todos fornecidos pelo kit. Assim, 100 µl das amostras diluídas foram adicionadas em seus poços específicos (contendo o antígeno aderido a estes) e incubados em temperatura ambiente (22-27ºC) por 60 minutos cobrindo-se a placa com uma tampa. Após a incubação, os conteúdos da placa foram removidos e submetidos a cinco lavagens, com 200 µl do tampão de lavagem por poço e por lavagem. Após a lavagem, 100 µl do reagente conjugado fornecido pelo kit foi adicionado em todos os poços e incubado em temperatura ambiente por 60 minutos cobrindo-se a placa com uma tampa. Em seguida, o conteúdo foi descartado e submetido a cinco lavagens, com 200 µl do tampão de lavagem por poço e por lavagem. Foi adicionado em cada poço da placa 100 µl do substrato reagente e incubado em temperatura ambiente (22-27ºC) por 30 minutos, protegendo os reagentes da luz com uma tampa. Após este período, 100µl da solução de parada foi adicionado em cada poço para o fim da reação. Então a placa foi submetida a Leitora de microplaca TP-READER da Thermo Plate® e a intensidade da cor produzida pelo teste de ELISA foi medida fotometricamente em um comprimento de onda de 405 nm. Os resultados obtidos na leitura foram compilados no Biochek II Diagnostic software® onde foram gerados relatórios com a titulação das amostras.

5. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em dois tópicos. O primeiro abordará o histórico das ações do SVO a partir da epidemia de 2010. O segundo relata os resultados dos inquéritos soroepidemiológico e clínicopatológico.

5.1 Histórico das granjas e ações de controle realizadas pelo SVO

Na época da notificação da ocorrência da LTI, em novembro de 2010, vinte e sete granjas faziam parte de uma única unidade epidemiológica, com um total de oito milhões de aves alojadas.

Ao final deste estudo, foram contabilizadas vinte e uma granjas ativas na região das Terras Altas da Mantiqueira. Apesar do número de granjas ativas ter diminuído, o número de aves

alojadas aumentou. Em março de 2019, 8.748.883 aves estavam alojadas. O aumento do número de aves alojadas na região é o resultado das ampliações realizadas nas granjas, seja pelo aumento do número de galpões, seja pelo aumento de tamanho dos galpões.

Outra mudança que ocorreu na região e favoreceu o aumento no número de aves alojadas está relacionada às granjas que deixaram de ser do tipo californiano para se tornaram californianas modificadas, quando as gaiolas ficam suspensas em várias fileiras distribuídas no galpão de forma piramidal (Figuras 7 e 8). A tabela 2 apresenta o número de galpões nas 21 granjas ativas na região interditada, com a respectiva capacidade média de alojamento por galpão e número total de aves alojadas por granja, em março de 2019.

Tabela2. Capacidade de alojamento dos galpões das granjas ativas na região interditada.

ID da granja	Nº de galpões	Capacidade aproximada de alojamento por galpão	Número de aves alojadas em março de 2019
1	9	15.000	104.249
2	8	20.000	166.057
3	3	10.000	22.100
4	6	15.000	69.886
5	14	20.000	271.811
6	21	8.000	119.906
7	12	30.000	304.353
10	9	25.000	51.084
11	9	50.000	358.817
12	3	5.000	22.416
13	17	35.000	261.906
15	5	30.000	128.296
16	2	50.000	77.853
17	5	6.000	28.748
18	12	15.000	396.605
19	7	35.000	330.947
20	14	115.000	1.310.990
21	34	102.000	3.394.738
22	18	100.000	1.269.968
23	8	5.000	34.278
24	4	7.500	23.875

Apesar da capacidade aproximada de alojamento por galpão, a granja 12 possui um galpão de 50.000 aves, a granja 18 possui três galpões de 100.000 aves, e a granja 22 possui oito galpões de 50.000 aves.



Figura 7. Granja tipo californiana. Fonte IMA, 2010.



Figura 8. Granja tipo californiana modificada. Fonte IMA, 2013.

Ainda em 2010 foi publicada a Portaria 1107/2010. Além de determinar a interdição das granjas de postura na região das terras altas da Mantiqueira e estabelecer a obrigatoriedade de notificação de novos surtos e implementação das medidas de biosseguridade, esta Portaria proíbe a muda forçada uma vez que esta prática diminui a imunidade das aves favorecendo a reativação do VLTI.

5.1.1 Controle sanitário nas granjas de recria localizadas em Pedralva

Por se tratarem de granjas de recria e terem o ciclo produtivo das aves mais curto, tornou-se viável o processo de erradicação da LTI nas três granjas localizadas em Pedralva. Este município está localizado a 70 km de Itamonte. Os lotes alojados nesta granjas na época da notificação da epidemia de LTI foram encaminhados apenas para as granjas de Itamonte, Itanhandu, Pouso Alto e Passa Quatro, uma vez que o trânsito de aves para regiões fora da área interditada estava proibido. Após a saída de todas as aves, de forma subsequente, foi realizada limpeza, desinfecção e vazio sanitário das instalações.

A Nota técnica CSA 16/2011, de 05 de setembro de 2011, autorizou um primeiro alojamento de aves na granja identificada neste estudo como “Recria 3”, considerando os resultados negativos ao longo da investigação e a ausência de sinais clínicos respiratórios nas aves alojadas desde o início da investigação. Após o recebimento das aves, esta granja foi monitorada em três etapas: a primeira, 21 dias após o alojamento de aves no pinteiro, a segunda, sete dias após a transferência das aves para o galpão de recria e a terceira, sete dias

após a debicagem das aves. Este ciclo de coletas se repetiu por mais três lotes alojados com todos os resultados negativos para o VLTI. Posteriormente, este mesmo procedimento foi autorizado para as outras duas granjas de recria do município. A tabela 3 apresenta uma síntese das ações nas granjas de recria localizadas em Pedralva.

Tabela 3. Síntese das ações realizadas nas granjas de recria localizadas no município de Pedralva, MG.

ID da granja	Sinais clínicos respiratórios na 1ª vistoria	Resultados obtidos ao longo da investigação	Data de alojamento das aves	Resultados obtidos após alojamento	Data de encerramento das investigações
Recria 1	Presença	PCR e Isolamento positivo	21/12/2012	Negativo	20/06/2013
Recria 2	Presença	PCR positivo	04/11/2011	Negativo	13/05/2013
Recria 3	Ausência	Negativo	08/10/2011	Negativo	25/07/2011

Após o alojamento das granjas, a nota técnica CSA 05/2012, de 06 de fevereiro de 2012, determinou que, apesar dos resultados laboratoriais terem sido negativos, as granjas que recebessem aves das recrias de Pedralva seriam mantidas em observação e vigilância clínica semanal pelo menos até quatro semanas após alcançado o pico de produção, a fim de atestar que as aves não apresentariam sinais sugestivos de LTI. Este monitoramento foi realizado em seis granjas e permaneceu até maio de 2012.

Após efetivo controle da doença, o município de Pedralva foi retirado do Bolsão das Terras Altas da Mantiqueira em 14/09/2016 por meio do Memorando nº 10/2016/CIEP/DSA/SDA/GM/MAPA.

5.1.2 Investigação das granjas de vínculo com as de recria localizadas em Pedralva

Assim como nas demais granjas interditadas na região das Terras Altas da Mantiqueira, o trânsito de entrada e saída das aves provenientes das granjas de recria de Pedralva foi avaliado para investigar uma possível ocorrência de LTI em granjas de outras regiões do estado de MG.

As granjas que receberam aves de Pedralva nos seis meses anteriores à notificação de LTI também foram interditadas para investigação epidemiológica. Dezenove granjas foram vistoriadas para verificar a presença de sinais clínicos sugestivos de LTI e para coleta de material. Dezessete granjas apresentaram resultados negativos, sendo que em três delas foram observados sinais clínicos de doença respiratória.

Duas granjas apresentaram PCR positivo para o VLTI, embora apenas uma granja apresentou aves com sinais clínicos respiratórios. Após o descarte das aves em final de produção, limpeza e desinfecção das instalações, concluiu-se pelo encerramento das ações oficiais nestas duas granjas. Não houve novos relatos de LTI. A tabela 4 apresenta os resultados desta investigação, enquanto a Figura 9 apresenta a distribuição geográfica das granjas.

Tabela 4. Granjas vinculadas às granjas de recria de Pedralva e que foram investigadas para a ocorrência de LTI.

Município de localização da granja	Sinais clínicos respiratórios	Resultado	Encerramento das investigações
Rio Novo	-	-	22/01/2011
Guarani	-	-	22/02/2011
Patrocínio	-	-	21/02/2011
Alterosa	-	-	22/02/2011
Alterosa	-	-	22/02/2011
Campestre	-	-	23/02/2011
Campo Belo	-	-	27/04/2011
Bom Despacho	-	-	28/03/2011
Santa Maria de Itabira	-	-	06/07/2011
Santa Maria de Itabira	-	-	06/07/2011
Cabo verde	-	-	11/11/2011
Pedralva	+	-	23/08/2011
Pedralva	-	-	23/08/2011
Pedralva	+	-	20/06/2013
Carvalhópolis	-	-	19/04/2011
Conceição dos Ouros	-	-	29/07/2011
Cachoeira de Minas	+	-	24/08/2011
Inconfidentes	-	PCR Positivo	19/07/2013
Ouro fino	+	PCR Positivo	29/05/2012

Foram observadas aves com sinais clínicos respiratórios em quatro das dezenove granjas investigadas. Apenas duas granjas apresentaram resultado positivo na técnica de PCR.

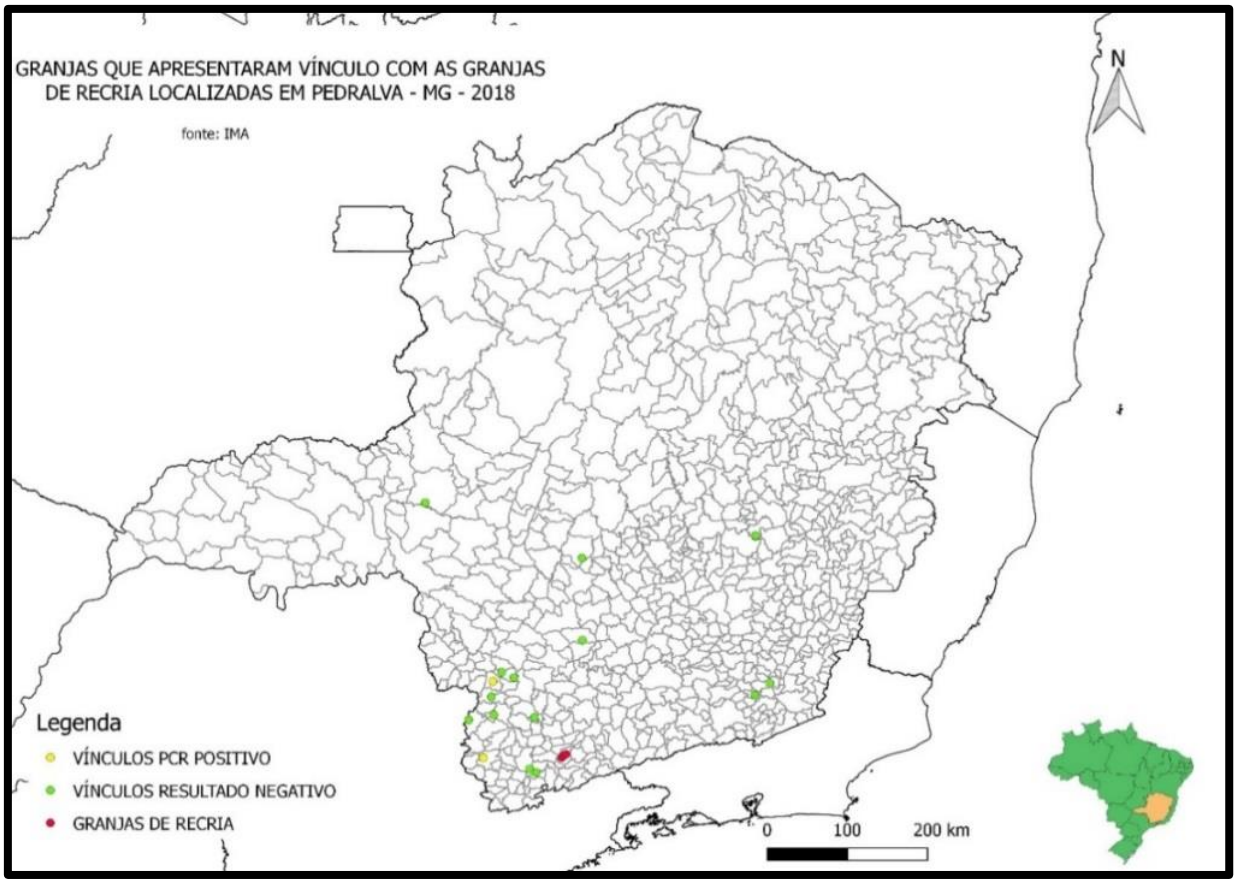


Figura 9. Localização das granjas que contêm vínculo com as granjas de recria de Pedralva, investigadas para a ocorrência de LTI. Das 19 granjas, duas apresentaram resultado positivo na PCR. Em função da escala utilizada para fazer o mapa, as granjas Pedralva ficaram sobrepostas umas às outras. Fonte: *software* QGIS.

De forma complementar, a relação das granjas localizadas fora do estado de Minas Gerais que também receberam aves neste período foi encaminhada ao Serviço de Saúde Animal da Superintendência Federal de Agricultura em Minas Gerais (SSA-MG), para as devidas providências. Não houve relato de suspeita de focos de LTI em outros estados.

5.1.3 Descarte das aves da região

A região das Terras Altas da Mantiqueira não possui frigorífico que atenda à demanda de abate das aves de descarte. Consequentemente, a distância de deslocamento destas aves atingiu até 760 km quando estas eram abatidas em frigorífico localizado em Rancharia/SP.

Em função do risco de transmissão do vírus, o SVO do estado de São Paulo restringiu a entrada de aves provenientes da região das Terras Altas da Mantiqueira por meio da Portaria CDA n°2, de 07 de fevereiro de 2012.

Desde então, parte das aves de descarte passaram a ser abatidas em frigorifico municipal localizado no município de São Jose do Alegre, distante 110 km de Itamonte. Por ser um frigorífico menor, sem conseguir atender a demanda da região, a solução encontrada foi sacrificar aves em final de produção por deslocamento cervical ou em uma sala de abate humanitário construída por uma das empresas, onde é feita a insensibilização das aves, sangria e envio da carcaça para graxaria. Recentemente, um frigorifico localizado em Cambuquira, distante 106 km de Itamonte, passou a receber o restante da demanda da região, não sendo mais necessário realizar sacrifício das aves.

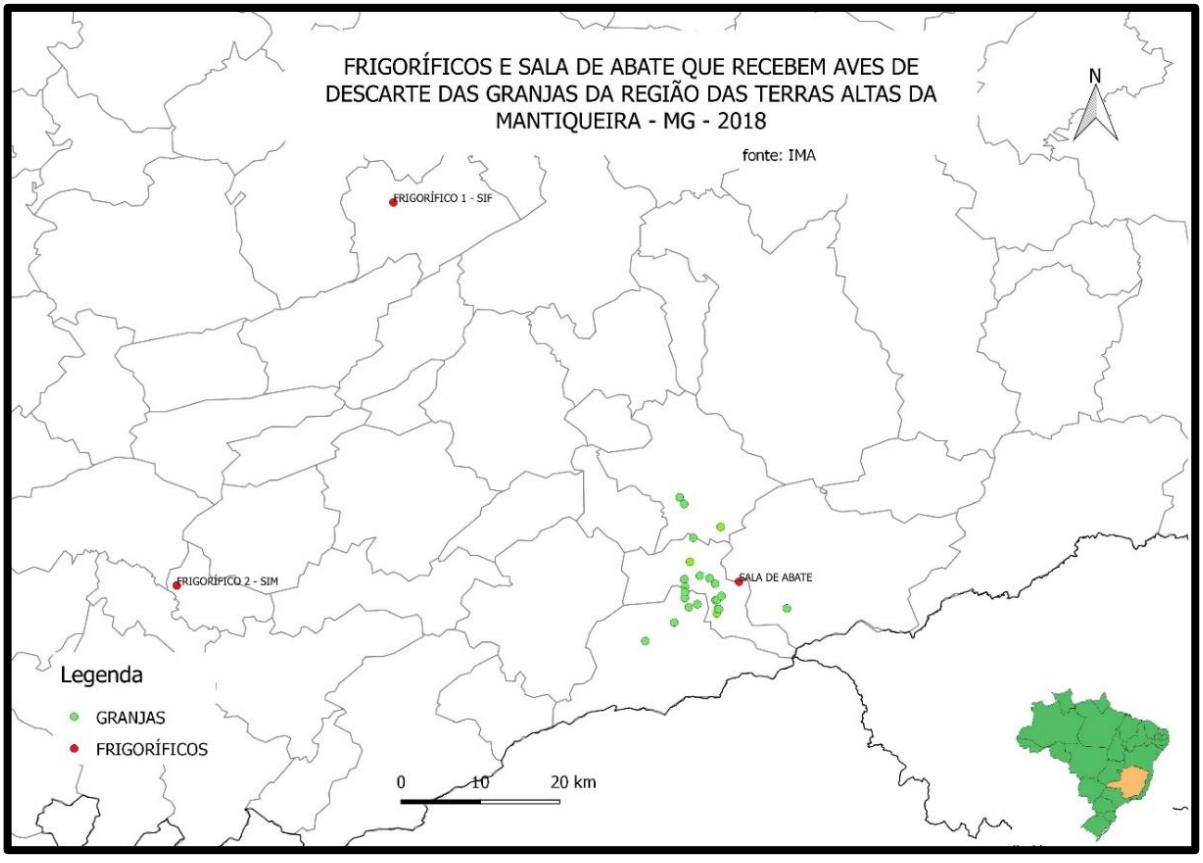


Figura 10. Mapa de localização dos frigoríficos e sala de abate que recebem as aves de descarte da região das Terras Altas da Mantiqueira, utilizando o *software* QGIS.

A figura 10 mostra a localização dos frigoríficos e sala de abate que atualmente são utilizados para o descarte das aves. Apesar dos frigoríficos selecionados não estarem localizados próximos a outras granjas de aves, a distância percorrida ainda representa risco de disseminação do vírus.

5.1.4 Trânsito do esterco

A retirada do esterco das granjas também fez parte do controle oficial. Após a notificação da epidemia, o mesmo passou a ser submetido a tratamento térmico para inativação do vírus.

Seis das 27 granjas inicialmente cadastradas encaminham o esterco fresco para a compostagem em propriedades distintas. Este procedimento já fazia parte da rotina destas granjas antes mesmo do foco de LTI ser notificado.

A justificativa para essa demanda seria a grande produção diária de esterco nestas granjas, aliado à necessidade de retirá-lo constantemente para não danificar e paralisar as esteiras dos galpões verticais, e evitando o armazenamento do esterco na propriedade. Esta prática causaria maus odores e risco de proliferação de moscas. As duas propriedades de compostagem ficam em área isolada, mitigando os problemas acima expostos. Entretanto, o transporte deste esterco até as propriedades de compostagem é considerado de alto risco sanitário, uma vez que o esterco contaminado pelo vírus pode infectar estradas e propriedades limítrofes a estas.

A figura 11 apresenta as granjas e suas respectivas propriedades de compostagem. A primeira é localizada na região do Barro Vermelho, em Itamonte. A segunda localizada em Campanha, cerca de 113 km de Itamonte.

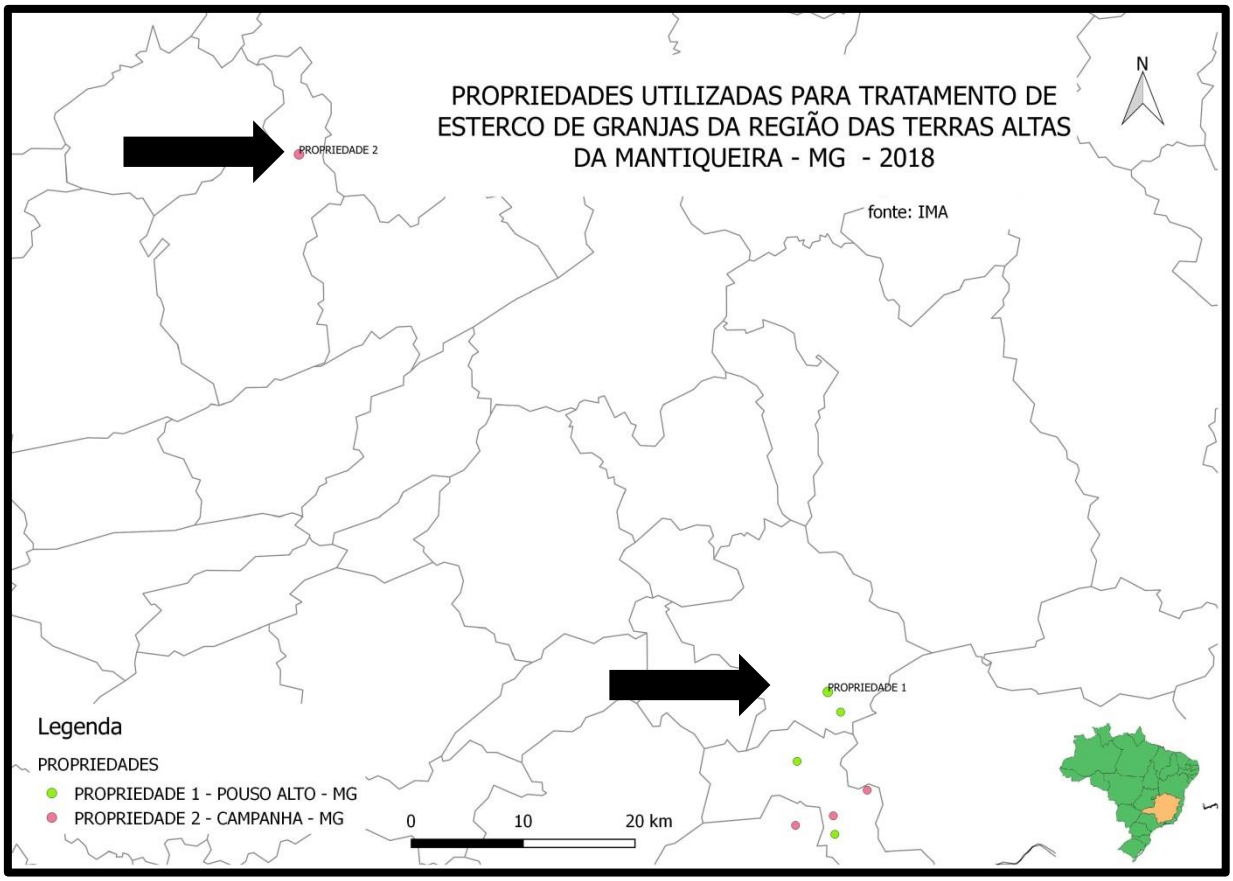


Figura 11. Granjas e suas respectivas propriedades de compostagem. Os pontos coloridos de verde representam as granjas que encaminham esterco pra compostagem na propriedade 1, localizada em Itamonte. Os pontos cor de rosa representam as três granjas que encaminham esterco para compostagem na propriedade 2, localizada em Campanha. Fonte: utilizou-se o *software* QGIS.

Por serem menores, as demais granjas realizam a compostagem dentro da própria propriedade, porém, em área mais afastada.

Na ocasião da epidemia de LTI em 2010, todo o trânsito do esterco fresco foi supervisionado pelo SVO por meio de escolta dos caminhões pelos carros oficiais. Após o controle do surto, as empresas passaram a fornecer ao SVO planilhas com as placas dos caminhões que saem das granjas com o esterco, horário de saída, quantidade de esterco, desinfecção dos caminhões e destino do esterco. Fiscalizações aleatórias são realizadas.

5.1.5 Vacinação e controle da LTI na região das Terras Altas da Mantiqueira

Considerando o grande deslocamento das aves de descarte e do esterco, o SVO concluiu que o uso da vacina viva na região das Terras Altas da Mantiqueira poderia ser um risco para as demais regiões do estado de MG, assim como para os estados vizinhos.

Diante disso, o MAPA autorizou o uso da vacina recombinante vetorizada nas granjas da região interditada, por meio da Nota Técnica CSA 14/2011. Esta vacina ainda não tinha sido utilizada no Brasil. Assim, o SVO não teve embasamento técnico para estabelecer um programa vacinal oficial ficando a critério de cada produtor definir o uso de uma ou duas doses da vacina ou até mesmo optar por não usar a vacina.

O monitoramento das granjas foi realizado de forma intensa desde a epidemia ocorrida em 2010 e permaneceu de forma contínua até 2018, em parceria com a EV- UFMG.

A vigilância foi realizada de duas formas: passiva e ativa. Na vigilância passiva amostras de tecido foram coletadas após notificações feitas pelos produtores e veterinários da região, mediante alteração de mortalidade e presença de sinais clínicos respiratórios em lotes alojados. A vigilância ativa foi realizada por meio de coletas semestrais realizadas entre os anos de 2012 e 2017 em granjas pré-determinadas, baseado no protocolo vacinal utilizado contra LTI (Santos 2019).

A figura 12 demonstra o número de lotes, de uma mesma granja ou não, cujas aves apresentaram lesões histológicas consistentes/compatíveis com LTI nas coletas realizadas por vigilância passiva e ativa nas granjas da região nos últimos oito anos. No período de setembro de 2013 a agosto de 2016, não foram notificados novos surtos da doença.

Quando as notificações de mortalidade e presença de sinais clínicos retornaram, no inverno de 2016, voltou-se a discutir a possibilidade de autorizar o uso da vacina viva atenuada. O requerimento dos produtores solicitando a autorização para o uso da vacina viva foi protocolado no IMA em maio de 2018. A entrega do plano de ação para fiscalização do uso da vacina viva na região das Terras Altas da Mantiqueira foi entregue pelo IMA ao MAPA em março de 2019.

A figura 13 mostra de forma sintetizada as ações relacionadas ao uso de vacina na região.

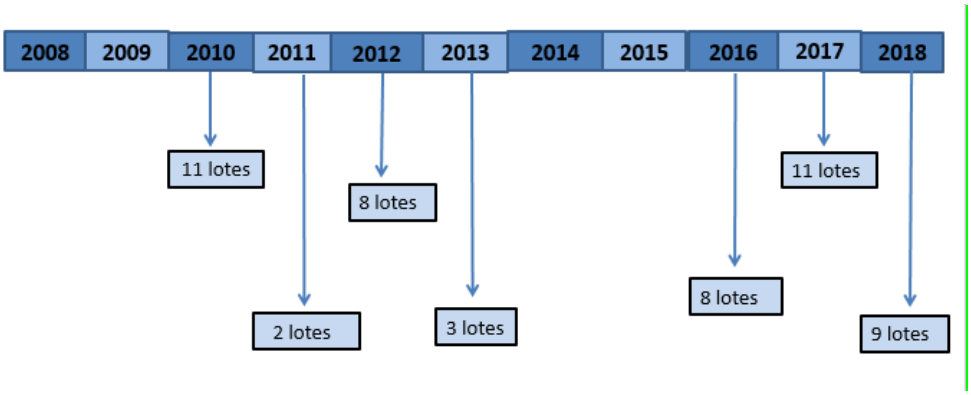


Figura 12. Número de lotes que receberam diagnóstico positivo para LTI nas coletas de vigilância passiva realizadas na região no período de 2010 a 2018 (Santos, 2019).

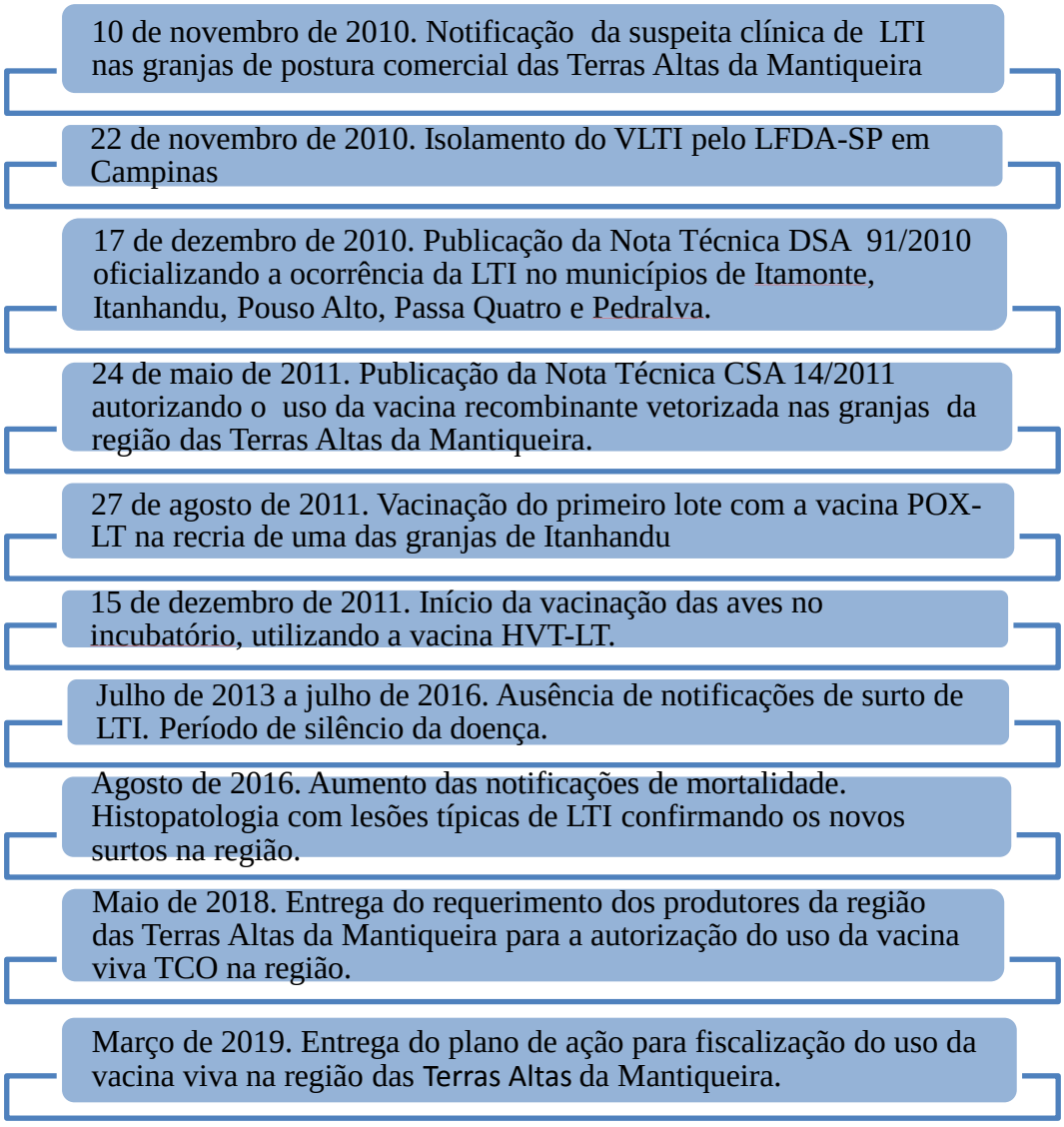


Figura 13. Cronologia das ações relacionadas ao uso da vacina recombinante vetorizada na região das Terras Altas da Mantiqueira.

5.2 Resultados do Inquérito soroepidemiológico e clínicopatológico realizado na região das Terras Altas da Mantiqueira

5.2.1 Resultados das coletas realizadas na região das Terras Altas da Mantiqueira nos anos de 2016 e 2017.

Para fins de vigilância epidemiológica, os resultados das coletas realizadas na região das Terras Altas da Mantiqueira foram trabalhados por granja, independentemente do número de aves que foram positivas nos testes laboratoriais. Ademais, apesar das análises por sorologia e histopatologia terem sido realizadas para cada ave individualmente, as amostras de segmentos de traqueia, gânglios trigêmeos e suabes de traqueia encaminhadas para o LFDA-SP em Campinas foram processados em forma de "pool", corroborando a necessidade de se trabalhar os resultados por granja.

As aves das vinte e quatro granjas apresentaram sorologia positiva, embora na coleta de 2016, três granjas não tiveram aves sororeagentes ao VLTI. Treze granjas tiveram aves com sinais clínicos e lesões no sistema respiratório, sendo oito granjas na coleta de 2016, doze na coleta de 2017 e sete em ambas as coletas. Outras doze granjas tiveram aves nas quais houve detecção do DNA do VLTI, sendo que em cinco granjas não houve associação com sinais clínicos e lesões no sistema respiratório.

Apenas quatro granjas apresentaram aves com lesões histológicas consistentes com LTI, sendo duas granjas em 2016 e duas em 2017. As aves nas quais foram identificadas lesões consistentes de LTI em 2016, também apresentaram detecção positiva de DNA do VLTI. Porém, não foram registradas lesões compatíveis com doença respiratória e em apenas uma destas granjas havia aves com sinais clínicos respiratórios. Em contrapartida, as aves das duas granjas que tiveram lesões consistentes de LTI na coleta de 2017, apresentaram sinais clínicos e achados de necropsia compatíveis com doença respiratória, além detecção do DNA do VLTI. A tabela 5 apresenta o resultado geral obtido nas coletas realizadas em 2016 e 2017.

As granjas que apresentaram aves com detecção positiva de DNA do VLTI, porém na histologia não foram visualizadas lesões consistentes com LTI, foram diagnosticadas com presença de outras doenças respiratórias (ODR) quando as aves apresentaram de sinais clínicos e lesões no sistema respiratório.

Contudo, aquelas em que as aves apenas apresentaram a PCR positiva, sem apresentarem sinais clínicos e lesões no sistema respiratório, foram classificadas como granjas em que há circulação do VLTI.

Tabela 5. Distribuição das granjas de acordo com os resultados clínicos e laboratoriais das aves da Região das Terras Altas da Mantiqueira, Minas Gerais, Brasil.

		2016					2017				
N	ID[1]	HTP[2]	PCR[3]	SC[4]	LSR[5]	Diagnóstico*	HTP[2]	PCR[3]	SC[4]	LSR[5]	Diagnóstico*
1	11	+	+	-	-	**LTI**	-	+	-	-	**VLT**
2	7	+	+	+	-	**LTI**	-	+	+	-	**ODR**
3	20	-	+	+	+	**ODR**	+	+	+	+	**LTI**
4	14	-	+	+	+	**ODR**	+	+	+	+	**LTI**
5	2	-	+	-	-	**VLTI**	-	+	-	-	**VLTI**
6	13	-	+	-	-	**VLTI**	-	+	-	-	**VLTI**
7	21	-	-	+	+	**ODR**	-	+	+	-	**ODR**
8	19	-	-	+	+	**ODR**	-	+	+	-	**ODR**
9	22	-	-	-	+	**ODR**	-	+	-	-	**VLTI**
10	3	-	-	+	+	**ODR**	-	+	+	+	**ODR**
11	18	-	-	+	+	**ODR**	-	+	+	+	**ODR**
12	1	-	-	-	-	**Negativo**	-	+	-	-	**VLTI**
13	15	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	-	+	**ODR**
14	16	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	-	+	**ODR**
15	17	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	-	+	**ODR**
16	5	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	+	-	**ODR**
17	10	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	+	-	**ODR**
18	12	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	-	-	**ODR**
19	4	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	-	-	**Negativo**
20	6	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	-	-	**Negativo**
21	8	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	-	-	**Negativo**
22	9	-	-	-	-	**Negativo**	-	-	-	-	**Negativo**
23	23	-	-	-	-	**sem coleta**	-	-	-	-	**Negativo**
24	24	-	-	-	-	**sem coleta**	-	-	-	-	**Negativo**

1.ID- Identificação da granja; 2. HTP – histopatologia (células sinciciais e CI); 3. PCR-qPCR para o VLTI; SC-Sinais clínicos de LTI; 5. LSR- lesões no sistema respiratório; *Todas as 24 granjas apresentaram sorologia positiva

As quatro granjas que apresentaram aves sororeagentes aos vírus da LTI, detecção do DNA do VLTI e lesões histológicas consistentes com LTI estão entre as maiores da região. A tabela 6 apresenta a síntese destas quatro granjas cujas aves tiveram lesões histológicas consistentes com LTI associando o número de aves alojadas, a presença ou ausência de sinais e lesões de necropsia, além do uso de vacinas recombinantes vetorizadas contra LTI nos lotes amostrados.

Tabela 6. Granjas com diagnóstico positivo para LTI e as respectivas informações sobre a presença de sinais clínicos e achados de necropsia em aves examinadas após a introdução das vacinas recombinantes vetorizadas contra LTI nas granjas da região.

ID da granja	Ano da coleta	Número de aves alojadas	Sinais clínicos	Lesões no sistema respiratório	Vacina HVL-LT	Vacina FPV-LT
Granja 7	2016	304.353	+		+	
Granja 11	2016	358.817			+	
Granja 20	2017	1.310.990	+	+	+	+
Granja 22	2017	1.269.988	+	+	+	+

Analisando cada granja de forma separada, as aves dos lotes amostrados na granja identificada como número um não apresentaram sinais clínicos e achados de necropsia compatíveis com doença respiratória, embora tenham sido sororeagentes ao VLTI. A PCR para detecção do DNA do VLTI resultou negativa. Não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

A sorologia das aves amostradas da granja número 2 foi positiva nas duas coletas. Apesar das aves amostradas em 2016 não apresentarem sinais clínicos e achados de necropsia compatíveis com doença respiratória, a PCR para detecção do DNA do VLTI foi positiva. Em contrapartida, na coleta de 2017, a PCR das aves amostradas resultou negativa, embora as aves tenham apresentado sinais clínicos sugestivos de doença respiratória. Não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

Foram observados espirros, cabeça inchada e edema de face nas aves da granja identificada como número 3, amostradas em 2016. À necropsia foram visualizadas massas caseosas nos sacos aéreos e pulmões. O resultado da PCR destas aves foi negativo. No lote amostrado em 2017, apesar do histórico relatar aves com sinais clínicos respiratórios, em apenas uma ave foi identificada traqueia hiperêmica com presença discreta de fibrina. A PCR destas aves foi positiva. Em ambas coletas a sorologia foi positiva. Não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

As aves dos lotes amostrados na granja identificada como número 4 não apresentaram sinais clínicos e achados de necropsia compatíveis com doença respiratória. Apenas na coleta de 2017 a sorologia foi positiva. Em ambas a PCR resultou negativa. Não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

Na coleta de 2016, as aves da granja identificada como número 5 não apresentaram sinais clínicos e achados de necropsia sugestivos de doença respiratória. Porém, na coleta realizada em 2017 as aves amostradas tinham o histórico de sinais clínicos respiratórios e uma das aves tinha opacidade de sacos aéreos. A sorologia destas aves foi positiva em ambas coletas, porem a PCR resultou negativa. Não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

Apesar das aves da granja identificada como número 6 terem sido sororeagentes ao VLTI em ambas coletas, não foram identificados sinais clínicos e lesões macroscópicas sugestivas de doença respiratória. Ademais, o resultado da PCR foi negativo nas duas coletas e não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nas aves desta granja.

As aves de um lote de 20 semanas da granja de número 7, amostradas na coleta de 2016, apresentaram dificuldade respiratória, porém não foram identificadas lesões macroscópicas na necropsia. A sorologia e a PCR destas aves foram positivas para o VLTI. Em duas aves, havia laringotraqueite fibrinonecrótica associada a formação e descamação de células sinciciais com corpúsculo de inclusão intranuclear. Estas lesões foram consistentes com LTI. Na coleta realizada na mesma granja em 2017, o lote amostrado tinha o histórico de sinais clínicos caracterizados por estertores, dispneia e expectoração de muco com sangue. Este mesmo lote foi amostrado em setembro de 2016, durante vigilância passiva e apresentou lesões histológicas consistentes com LTI. No entanto, apesar das aves serem sororeagentes ao VLTI e a PCR para detecção de DNA do VLTI ter sido positiva, na coleta de 2017 não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

As aves dos lotes amostrados na granja identificada como número 8 não apresentaram sinais e lesões sugestivas de doença respiratória. Apenas na coleta de 2017 a sorologia foi positiva, porém em ambas a PCR foi negativa. Também não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

As aves dos lotes amostrados na granja identificada como número 9 não apresentaram sinais clínicos e lesões macroscópicas compatíveis com doença respiratória. Em ambas a sorologia

foi positiva, porém a PCR resultou negativa. Não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves

As aves dos lotes amostrados na granja identificada como número 10 não apresentaram sinais clínicos de doença respiratória. Entretanto, na coleta de 2017 foram identificadas aves com aerossaculite, secreção amarelada e densa nas conchas nasais e exsudato caseoso no pericárdio. Em ambas coletas a sorologia foi positiva, porém a PCR foi negativa. Não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

Apesar das aves da granja número 11, não terem apresentado sinais clínicos e achados de necropsia compatíveis com LTI, as aves de um lote de 49 semanas foram sororeagentes ao VLTI e a PCR para detecção do VLTI foi positiva. Neste mesmo lote, uma das aves apresentou laringotraqueite fibrinonecrótica associada a formação e descamação de células sinciciais com corpúsculo de inclusão intranuclear, achados consistentes de LTI. Na coleta realizada em 2017, apesar das aves apresentarem histórico de sinais clínicos respiratórios, sorologia e PCR positivas para o VLTI, não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI.

As aves amostradas na granja com o número 12 não apresentaram sinais clínicos compatíveis com doença respiratória, apesar de serem sororeagentes ao VLTI. Na coleta de 2017, foi visualizada opacidade de sacos aéreos com fibrina em uma das aves. Em ambas coletas a PCR resultou negativa. Da mesma forma, não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

As aves dos lotes amostrados na granja identificada como número 13, apresentaram aves com histórico de doença respiratória na coleta de 2017. Em ambas coletas as aves foram sororeagentes ao VLTI, porem a PCR foi positiva apenas na coleta de 2016. Não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

Na coleta de 2016, as aves amostradas da granja de número 14 apresentavam dificuldade respiratória e no momento da necropsia havia espessamento dos sacos aéreos abdominais, presença de exsudato caseoso nos sacos aéreos torácicos, traqueia com mucosa hiperêmica e

com grande quantidade de muco. Apesar da sorologia e PCR destas aves terem sido positivas, não foram visualizadas células sinciciais e corpúsculo de inclusão intranuclear na histopatologia. Na coleta realizada em 2017, não havia sinais e lesões sugestivas de doença respiratória. Tanto a sorologia quanto a PCR foram positivas. Não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

As aves dos lotes amostrados na granja identificada como número 15 não apresentaram sinais clínicos e achados de necropsia sugestivos de doença respiratória nas duas coletas. Apenas na coleta de 2017 a sorologia e PCR foram positivas. Também não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

Nas duas coletas realizadas, as aves dos lotes amostrados na granja identificada como número 16 não apresentaram sinais clínicos e achados de necropsia sugestivos de doença respiratória. Em ambas coletas a sorologia foi positiva, porém, apenas na coleta de 2017 a PCR foi positiva. Não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nas aves destas granjas.

Apesar das aves amostradas na granja número 17 serem sororeagentes ao VLTI, na coleta de 2016 não foram observados sinais clínicos de doença respiratória e identificadas lesões macroscópicas compatíveis com LTI. A PCR destas aves também foi negativa. No entanto, na coleta realizada em 2017, as aves apresentavam dificuldade respiratória espirro, lacrimejamento, edema de face e secreção nasal. Apesar de não serem identificadas lesões macroscópicas na necropsia, a PCR destas aves foi positiva. Não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nestas aves.

As aves amostradas da granja de número 18, na coleta de 2016, apresentavam dificuldade respiratória, secreção nasal e edema de face. Macroscopicamente, havia aderência torácica por deposição de fibrina e focos hemorrágicos no pulmão. Em uma das aves além dos focos hemorrágicos no pulmão, havia exsudato caseoso nos brônquios. Apesar destes achados, apenas a sorologia foi positiva. Na coleta realizada em 2017, não foram identificados sinais e lesões de doença respiratória apesar da positividade na sorologia e na PCR para o VLTI.

Contudo, não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nas aves da granja número 18.

As aves amostradas da granja de número 19, na coleta de 2016, apresentavam dificuldade respiratória, secreção nasal e edema de face. Macroscopicamente havia focos de pneumonia. Apesar destes achados, apenas a sorologia foi positiva. Na coleta realizada em 2017, não foram identificados sinais e lesões de doença respiratória. Apenas a sorologia foi positiva. Não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves.

As aves amostradas da granja de número 20, na coleta de 2016, apresentavam sinais de dificuldade respiratória. Macroscopicamente, havia aderência torácica por deposição de fibrina e presença de exsudato caseoso nos sacos aéreos torácicos. A sorologia e PCR destas aves foram positivas, porém, não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves. Na coleta de 2017, foram identificadas aves apáticas com edema de face e de barbela, apresentando dispneia, e secreção nasal e ocular. Macroscopicamente havia muco na traqueia e aderência pulmonar, mucosa da traqueia hiperêmica e com muco. Em uma das aves havia exsudato caseoso na traqueia. A sorologia e PCR destas aves foram positivas. Em uma das aves foram constatadas lesões de laringotraqueite fibrinecrótica associada a formação e descamação de células sinciciais com corpúsculo de inclusão intranuclear, lesões estas consistentes com LTI.

As aves da granja de número de 21, na coleta de 2016, apresentavam estertor respiratório e edema de face. Em uma das aves havia exsudato caseoso nos sacos aéreos e consolidação pulmonar. As aves foram sororeagentes ao VLTI. Na coleta de 2017, as aves apresentavam estertor, dificuldade respiratória e estavam prostradas. Algumas aves estavam com conjuntivite associada a intensa secreção purulenta. Macroscopicamente, havia traqueíte mucoide acentuada e aerossaculite caseosa. A sorologia e a PCR destas aves foram positivas. Contudo, não foram identificadas lesões consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nas aves de ambas coletas.

Na coleta de 2016, em uma das aves amostradas da granja número 22, constatou-se aerossaculite caseosa. No entanto, as demais aves não apresentaram sinais e lesões de doença

respiratória. As aves foram sororeagentes ao VLTI, entretanto, não foram identificadas lesões histológicas consistentes ou mesmo compatíveis com LTI nessas aves. Na coleta de 2017, foram identificadas aves com sinais de apatia, com estertor e dificuldade respiratória. Macroscopicamente havia traqueíte mucoide e aerossaculite fibrinosa. A sorologia e PCR destas aves foram positivas. Em uma das aves havia bronquite fibrinonecrótica com descamação e formação de células sinciciais com corpúsculo de inclusão intranuclear consistente com LTI.

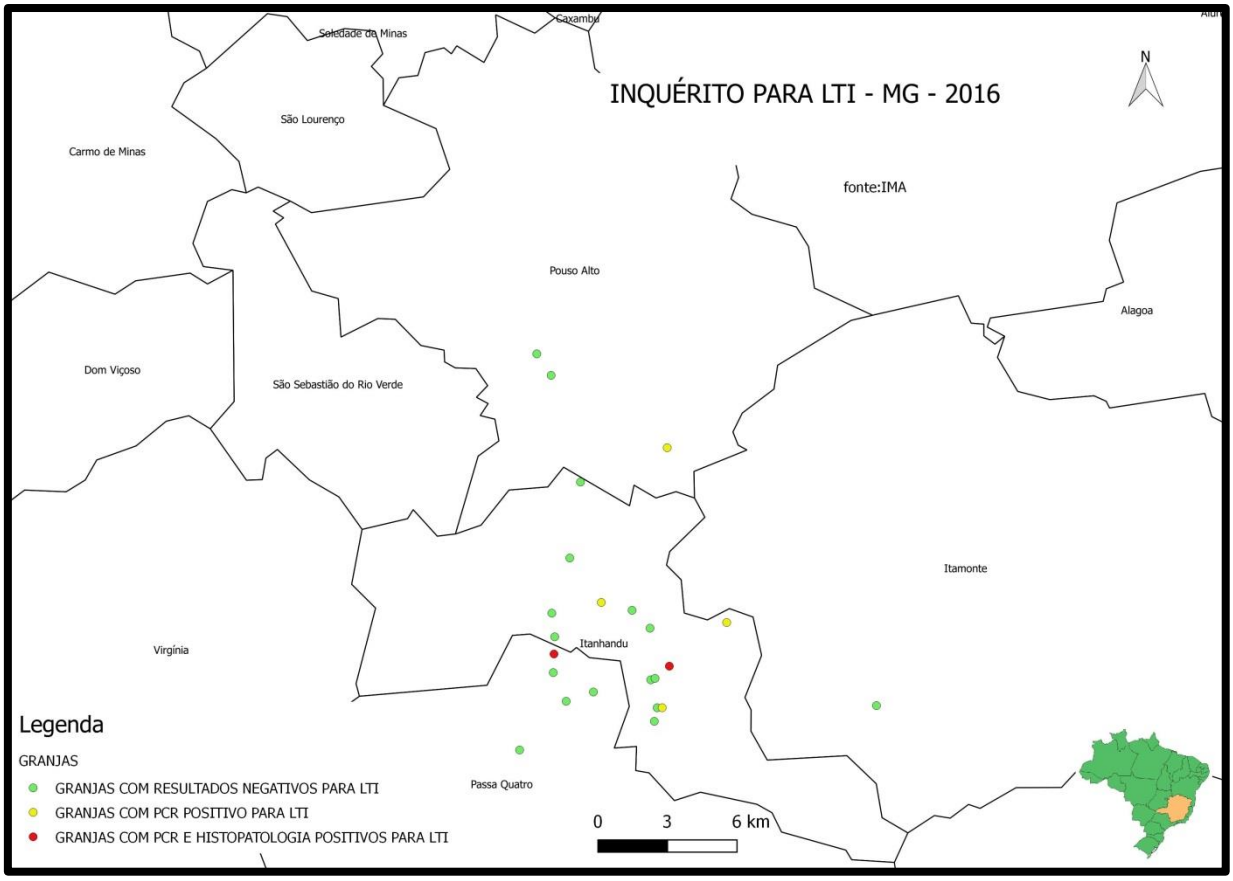


Figura 14. Mapeamento dos resultados das coletas realizadas em 2016, utilizando o *software* QGIS. Na coleta realizada em 2016, vinte e duas granjas foram amostradas. Em quatro granjas (amarelas), a PCR para detecção do DNA do VLTI resultou positiva, porém não foram identificadas lesões histológicas consistentes com LTI. Em duas granjas (vermelhas), o resultado da PCR foi positiva e foram identificadas lesões histológicas consistentes com LTI.

As granjas 23 e 24 não foram amostradas nas coletas de 2016, pois estavam sem aves alojadas. Na coleta de 2017, tanto a granja de número 23 quanto a de número 24 não apresentaram aves com sinais clínicos e achados de necropsia compatíveis com doença respiratória. Apenas a sorologia das aves destas granjas foi positiva.

As figuras 14 e 15 demonstram a distribuição das granjas que apresentaram PCR positiva e aquelas que apresentaram PCR e lesões histológicas compatíveis com LTI. Em 2016, seis granjas apresentaram aves cuja PCR para detecção do DNA do VLTI resultou positiva. Entretanto, em apenas duas destas seis granjas foram identificadas lesões histológicas compatíveis com LTI.

Na coleta realizada em 2017, a PCR para detecção do DNA do VLTI resultou positiva em onze granjas. Entretanto, em apenas duas destas onze granjas foram identificadas lesões histológicas consistentes com LTI.

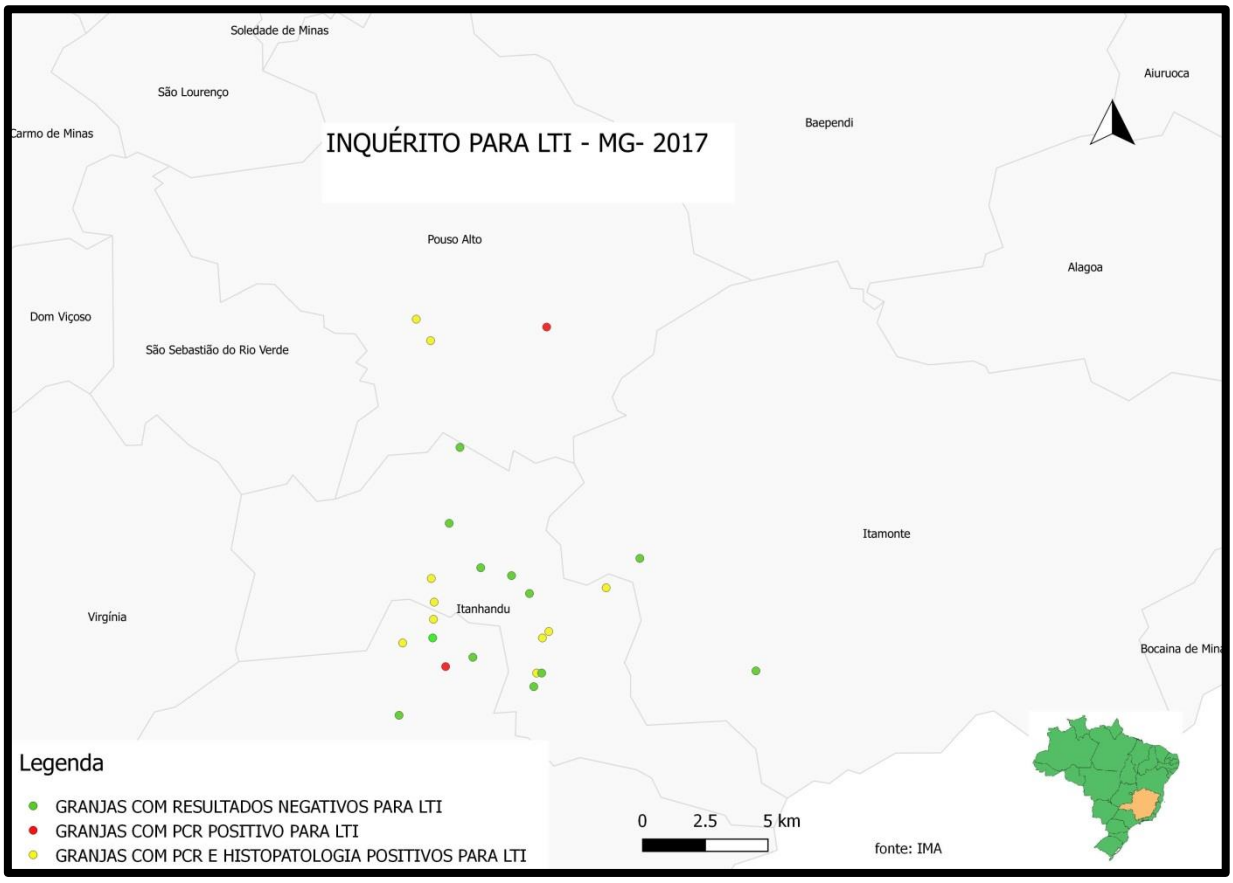


Figura 15. Mapeamento dos resultados das coletas realizadas em 2017, utilizando o *software* QGIS. Na coleta realizada em 2017, vinte e quatro granjas foram amostradas. Em nove granjas (amarelo) a PCR para detecção do DNA do VLTI resultou positiva, porém não foram identificadas lesões histológicas consistentes com LTI. Em duas granjas (vermelho), o resultado da PCR foi positiva e foram identificadas lesões histológicas consistentes com LTI

5.2.2 Resultados referentes a taxa de mortalidade

A taxa de mortalidade mensal de 332 lotes, pertencentes a 16 granjas da região interditada, foi avaliada no período de janeiro de 2016 a setembro de 2018, sendo que em 83 lotes esta taxa foi avaliada desde o início da produção das aves até o final.

A tabela 7 mostra as menores e maiores taxas de mortalidade observadas em cada granja de postura no período de estudo, relacionando a idade das aves e a presença ou ausência de diagnóstico positivo para LTI na histopatologia naquele lote em determinado momento de alojamento.

Observou-se que a taxa de mortalidade das granjas da região variou de forma intensa e que em apenas duas granjas as maiores taxas de mortalidade foram relacionadas a histopatologia positiva de LTI nas coletas de vigilância ativa e passiva realizadas ao longo dos últimos oito anos.

Tabela 7. Menor e maior taxa de mortalidade mensal observada no período de janeiro de 2016 a setembro de2018, nas granjas de postura interditadas.

	Menor taxa mensal	Idade da ave (semanas)	Histopatologia	Maior taxa mensal	Idade da ave (semanas)	Histopatologia
Granja 1	0,18%	18	Negativo	3,85 %	87	Negativo
Granja 2	0,02%	41	Negativo	8,91%	29	Negativo
Granja 3	0,33%	31	Negativo	4,34%	32	Negativo
Granja 5	0,24%	30	Negativo	1,98%	91	Negativo
Granja 6	0,03%	19	Negativo	11,52%	130	Positivo
Granja 7	0,06%	19	Negativo	8,53%	14	Positivo
Granja 11	0,27%	19	Negativo	3,22%	37	Negativo
Granja 12	0,04%	100	Negativo	11,38%	42	Negativo
Granja 13	0,16%	107	Negativo	4,84%	35	Negativo
Granja 14	0,23%	96	Negativo	6,43%	27	Negativo
Granja 15	0,18%	27	Negativo	21,56	33	Negativo
Granja 18	0,19%	20	Negativo	4,46%	18	Negativo
Granja 20	0,09%	18	Negativo	5,92%	88	Negativo
Granja 21	0,58%	29	Negativo	21,23%	92	Negativo
Granja 24	0,37%	48	Negativo	8,5%	87	Negativo

5.2.3 Análise da biosseguridade das granjas de postura comercial da região das Terras Altas da Mantiqueira:

A Instrução Normativa MAPA n°56 /2007 estabelece os procedimentos de registro, fiscalização e controle de estabelecimentos avícolas de reprodução e comerciais. Entre as exigências impostas pela normativa, está a implementação de medidas de biosseguridade, afim de mitigar o risco de introdução de doenças dentro de uma população animal.

Apesar da IN 56 ter sido publicada em 2007, nas primeiras vistorias realizadas na região de Itamonte, logo após a notificação do surto de LTI em 2010, constatou-se que não havia nas granjas medidas adequadas de biosseguridade.

Ademais, o fato dessas granjas estarem muito próximas umas das outras, sem o adequado isolamento de cada unidade de produção, contribuiu para que a região fosse classificada como uma única unidade epidemiológica, englobando todas as granjas ativas envolvidas no surto de LTI como um "Bolsão" das Terras Altas da Mantiqueira.

A melhora na biosseguridade das granjas da região começou a ser observada quando o IMA, por meio da portaria 1107/2011, passou a exigir o controle oficial do trânsito de aves e esterco, desinfecção de veículos na saída das granjas e proibiu a prática de muda forçada.

No decorrer dos últimos oito anos, foi realizado um intenso trabalho de educação sanitária com os representantes das granjas. Os fiscais do IMA tiveram a oportunidade de apresentar a importância da implementação das medidas de biosseguridade, não só para o controle da LTI, mas também para as demais doenças e consequente melhoras dos índices produtivos.

Após a publicação da Instrução normativa MAPA n°08/2017, que estipulou março de 2018 como prazo final para requerimento de registro das granjas junto ao SVO, os produtores da região se viram obrigados a atender os requisitos mínimos de biosseguridade, pois caso contrário, não teriam autorização para alojar novos lotes de aves.

Vinte e uma granjas da região foram registradas conforme as exigências da IN 56/2007.

Entretanto, considerando que uma das formas de controle da LTI é a implementação de medidas de biosseguridade, as granjas da região das Terras Altas da Mantiqueira deverão implementar medidas adicionais de biosseguridade, afim de reduzir a transmissão do VLTI entre as aves susceptíveis.

Neste trabalho, os resultados referentes à biosseguridade foram obtidos por meio da compilação das informações de 2010 comparadas às obtidas em 2018.

Na avaliação do Incremento da Biosseguridade (IncB) entre 2010 e 2018, observou-se que as granjas obtiveram melhoria nos escores de biosseguridade. Desta forma, o Indicador de Biosseguradade Geral (IBG) da área de foco variou de 27 em 2010 para 49 em 2018 (Tabela 8).

Foi observada correlação de Spearman positiva ($p<0,001$) entre IB_2010 e IB_2018 ($r=0,654$) e entre IB_2018 e IncB ($r=0,696$). Isso demonstra, que o resultado final está correlacionado com o inicial, e que as granjas que tiveram melhorias maiores no período são as granjas que tiveram melhores resultados no escore de biosseguridade.

Das vinte e quatro granjas estudadas, 18 (75%) apresentaram melhorias na biosseguridade, com diferença significativa pelo teste de Wilcoxon ($p<0,05$), e consequentemente foram registradas pelo IMA conforme determinação da IN 56/2007.

Em três granjas (12,5%), melhoras na biosseguridade não foram constatadas. Desse modo, por não atenderem às medidas mínimas exigidas pela IN 56/2007, permanecem sem autorização para novos alojamentos de aves, conforme estipulado pela Instrução Normativa MAPA n° 08/2018.

Outras três granjas (12,5%) foram inativadas em 2018 por iniciativa dos produtores. Devido a este fato, a biosseguridade destas granjas não foi analisada (tabela 9).

Tabela 8. Distribuição dos indicadores de biosseguridade das granjas das Terras Altas da Mantiqueira entre os anos de 2010 e 2018.

N	Identificação da granja	Indicadores de Biosseguridade (IB)		Incremento de Biosseguridade (IncB)*
		2010	2018	
1	5	24	51	27*
2	10	31	55	24*
3	20	27	51	24*
4	19	26	50	24*
5	11	31	54	23*
6	7	29	52	23*
7	22	27	50	23*
8	2	26	49	23*
9	1	25	48	23*
10	18	27	49	22*
11	16	26	48	22*
12	6	24	46	22*
13	15	27	48	21*
14	21	34	54	20*
15	3	28	47	19*
16	13	27	45	18*
17	23	27	44	17*
18	4	37	51	14*
19	24	21	33	12
20	17	18	30	12
21	12	26	37	11
Geral	Mediana	27[1]	49[2]	22[3]
	Quarti1 - Quartil3	25,5-28,5	45,5-51,0	17,5-23,0
	Mínimo – Máximo	18-37	30-55	11-27

IBP= Somatório de notas (0 a 3) dos 23 parâmetros do questionário de biosseguridade aplicado ao SVO (mínimo= zero e máximo =69); IBG=Mediana dos IBP ([1.]IBG2010, [2.]IBG2018); [3.] IncBG $_{(2010\text{-}18)}$; *diferença significativa - teste de Wilcoxon ($p< 0,05$). Três granjas foram desativadas antes de 2018, portanto não foram consideradas (ID 8, 9, 14)

Tabela 9. Avaliação do nível de biosseguridade das granjas das Terras Altas da Mantiqueira.

Número de Granjas	Porcentagem	Identificação da granja	Nível de biosseguridade	Situação de registro junto ao SVO
18	75%	1, 2, 3, 4, 5, 6,7, 10, 11, 13,15, 16, 18, 19,20, 21, 22,23	Melhora da biosseguridade	Registradas
3	12,5%	12, 17,24	Mantiveram o mesmo nível	Sem autorização para novos alojamentos
3	12,5%	8, 9 e 14	Mantiveram o mesmo nível	Inativadas por iniciativa do produtor

Considerando o comportamento de cada fator levantado na análise da biosseguridade, alguns critérios apresentaram diferença de estatística ($p<0,05$) positiva na distribuição nas granjas do foco, considerando 2010 e 2018, respectivamente. Alguns permaneceram com uma distribuição semelhante em todo o período, ou seja, inalterada ($p>0,05$). E apenas um critério,

o "número de lotes por galpão" foi contrário à melhoria das práticas da biosseguridade ao longo dos últimos anos (p<0,05), com aumento de densidade (Tabela 11).

Tabela 10. Distribuição das dos escores de avaliação da biosseguridade, segundo avaliação da melhoria final, 2010-2018.

			Valores atribuídos na avaliação								
			2010				2018				Análise*
Classificação dos Critérios		CRITÉRIOS	0	1	2	3	0	1	2	3	2010-18
	1	Limpeza dos galpões após saída das aves	18	0	0	3	0	0	0	21	P
	2	Tratamento do esterco	20	0	0	1	0	4	1	16	P
	3	Destino das aves mortas	0	0	21	0	0	0	9	12	P
	4	Controle de ocorrência de outras doenças	21	0	0	0	0	0	0	21	P
Controle sanitário	5	Desinfecção de veículos	17	0	0	4	3	0	8	10	P
	6	Controle de uniformes	6	15	0	0	4	12	3	2	P
	7	Entrega da GTA de origem das aves ao SVO	21	0	0	0	0	11	2	8	P
	8	Ficha de lote em cada galpão	3	0	14	4	0	0	2	19	P
Organização	9	Controle de entrada de pessoas	21	0	0	0	4	0	17	0	P
	10	Controle de entrada e saída de veiculo	20	0	0	1	3	13	0	5	P
	11	Cerca de isolamento dos galpões	18	1	1	1	3	1	12	5	P
Instalações	12	Tela nos galpões	20	0	1	0	4	0	13	4	P
Produção/produtividade	13	Período de produção das aves**	16	0	0	0	6	7	3	0	P
	14	*Programa vacinal*	0	0	0	21	0	0	0	21	I
	15	*Período de vazio sanitário entre os lotes*	18	1	2	0	19	0	2	0	I
	16	*Frequência da retirada do esterco*	2	2	16	1	2	2	12	5	I
Controle sanitário	17	*Controle de pragas e roedores*	0	0	0	21	0	0	0	21	I
	18	*Limpeza da área externa dos galpões*	1	0	0	20	1	0	0	20	I
	19	*Atuação do médico veterinário responsável técnico (RT)*	2	0	14	5	2	0	10	9	I
Organização	20	*Registro com observações dos RTs*	21	0	0	0	21	0	0	0	I
	21	*Distância entre as granjas*	2	2	6	11	2	2	6	11	I
Instalações	22	*Distância entre os galpões e a estrada*	1	0	1	19	1	0	1	19	I
Produção/produtividade	23	*Número de lotes dentro de um mesmo galpão*	0	2	0	19	0	2	8	11	N

*Alteração da condição de biosseguridade considerada como P=positiva; N= Negativa; I-= Inalterada;

** No fator período de produção das aves, foram avaliadas apenas as dezesseis granjas de produção, as outras cinco são de recria

5.2.3.1 Entrega da GTA de origem das aves ao SVO

Em 2010, quando o surto foi notificado, o sistema utilizado para emissão de GTA no estado de MG era o *GeoDSA*, que não permitia o controle de saldo de aves na granja. Nas fiscalizações, o cálculo do número de aves de cada granja era baseado na capacidade de alojamento aliado ao controle manual das GTA's de entrada e de saída. Estas GTA's permaneciam nas granjas, sendo disponibilizadas aos fiscais no momento da fiscalização da granja. Consequentemente, não havia efetivo controle do número de aves (saldo) nas granjas de postura da região.O sistema de defesa agropecuária (SIDAGRO) substituiu o *GeoDSA* em 2015. Além de emitir as Guias de Trânsito Animal (GTA), o SIDAGRO permite dentre outras

coisas o controle de saldo das aves por meio de crédito (GTA de entrada) e débito (GTA de saída e lançamento das aves mortas naquele lote).Quando o incubatório emite a GTA de pintos de um dia, o crédito de aves é automaticamente inserido na granja de destino. No entanto, enquanto a comunicação entre os programas estaduais não ocorre, as informações das GTAs das aves provenientes de outros estados devem ser lançadas de forma manual no sistema SIDAGRO. Em Itamonte, pelo fato das granjas estarem interditadas e necessitarem de maior controle oficial, as GTA's são lançadas pelo Fiscal Agropecuário.

Considerando que as aves de postura da região das Terras Altas da Mantiqueira têm origem em incubatórios de MG, SP, SC e RS, torna-se necessário que os fiscais do IMA lancem os dados das GTAs interestaduais no SIADGRO, sistema utilizado pelo IMA para controle de número de aves alojadas (saldo) e emissão de GTA. Foi possível identificar que no sistema anterior, a entrega destas GTAs era feita na grande maioria de forma aleatória, sem uma frequência estabelecida.

Em 2010, nenhuma das granjas analisadas entregavam as GTA's de origem das aves ao SVO, o que dificultava o controle de saldo destas. Em 2018, apenas oito granjas (38%) entregaram as GTA's logo após a chegada das aves. Este resultado está aquém do esperado, pois para efetivo controle de saldo, é necessário que seja estipulado o crédito inicial de aves, com o lançamento da mortalidade e saída de aves ao final do ciclo de produção. Sem o efetivo controle de saldo não tem como o SVO detectar as alterações de mortalidade ocorridas nas granjas.

Duas granjas (10%) entregam as GTA's mensalmente ao IMA. Onze granjas (52 %) ainda entregam as GTA's de origem no momento do descarte das aves, a fim de dar o crédito necessário para a emissão da GTA de saída, sem que seja feito o lançamento das aves mortas ao longo do alojamento.

5.2.3.2 Ficha de lote

Em 2010, quatorze granjas (67%) utilizavam sistemas adquiridos de empresas de informática como forma de controle dos índices zootécnicos das granjas. Os dados que alimentavam estes

programas eram repassados pelos funcionários sem que um histórico fosse mantido em cada galpão (ficha de lote). Durante as fiscalizações, havia grande dificuldade em visualizar a mortalidade em cada galpão, pois na maioria das vezes, o programa não estava disponível para consulta ou os dados eram difíceis de ser interpretados.

Apenas quatro granjas (19%) tinham como rotina deixar a ficha de lote em cada galpão durante todo o alojamento das aves. Três granjas (14%) não possuíam controle dos índices zootécnicos.

Em 2018, dezenove granjas (90%) passaram a manter a ficha de lote por galpão durante todo o alojamento das aves. Apenas duas granjas (10%) permanecem sem usar a ficha de lote durante todo o alojamento da ave.

5.2.3.3 Número de lotes

Dezenove granjas (90%) mantinham apenas um lote por galpão e duas granjas (10%) mantinham até três lotes por galpão. Em 2018, onze granjas (52%) permaneceram com um lote no galpão e oito granjas (38%) passaram a alojar dois lotes por galpão, o que representou piora relacionada à biosseguridade. As mesmas duas granjas (10%) mantiveram o alojamento de três lotes por galpão.

Apesar dos múltiplos lotes dentro do mesmo galpão ter a mesma idade, ainda representa um risco sanitário, pois a origem destes é diferente. O ideal é que os galpões sejam alojados com aves de um mesmo lote, quando a espécie, idade e origem são as mesmas.

5.2.3.4 Período de vazio sanitário

Com relação ao vazio sanitário, em 2010, dezoito granjas (85%) realizavam em um período inferior a um mês. Uma granja (5%) no período de um a dois meses e duas granjas (10%), entre três a quatro meses. Em 2018, as mesmas duas granjas (10%) mantiveram o vazio sanitário de três a quatro meses e dezenove (90%) granjas em período inferior a um mês.O período mínimo de vazio sanitário é de 21 dias, iniciando após limpeza e desinfecção dos

galpões (OIE, 2014). O ideal é que o vazio sanitário dos galpões seja superior a um mês. Este fator está entre aqueles em que não houve melhora ao longo dos anos.

5.2.3.5. Período de produção das aves

As cinco granjas que realizam apenas a recria das aves não foram avaliadas neste fator. As dezesseis restantes (100%) mantinham as aves por um período superior a 120 semanas. Em 2018, seis granjas (38%) mantiveram este período de produção. Sete granjas (44%) passaram a manter aves entre 100 a 120 semanas e apenas três granjas (18%) entre 90 e 100 semanas.

5.2.3.6 Atuação do médico veterinário responsável técnico.

Em 2010, os médicos veterinários responsáveis técnicos de quatorze granjas (66%) prestavam assistência em mais de uma granja. É importante ressaltar que alguns deles também eram vendedores de insumos e prestavam assistência técnica às granjas de forma secundária. Cinco granjas possuíam veterinários exclusivos da empresa, sendo que três granjas (24%) recebiam a assistência de um mesmo veterinário por fazerem parte de uma mesma empresa e as outras duas, de forma semelhante, também recebiam a assistência de um único veterinário da empresa. Duas granjas (10%) não tinham veterinário como RT. Em 2018, nove granjas (43%), passaram a ter veterinários exclusivos, embora três 3 delas compartilhem a assistência entre as suas granjas. Dez granjas (47%) permanecem com os veterinários de forma compartilhada e as mesmas duas granjas sem assistência veterinária. Com relação às orientações e prescrições dos médicos veterinários, não houve mudança ao longo dos anos.

Desde 2010, os veterinários não apresentam ao SVO registros de prescrições ou outras medidas que demostrem sua atuação como RT, apesar desta ser uma das exigências de um médico veterinário responsável técnico.

5.2.3.7 Controle de ocorrência de outras doenças e programa vacinal

Em 2010, não havia controle de ocorrência para outras doenças. Em 2018, todas as granjas relataram monitorar os lotes para outras doenças com a realização de necropsias e coleta de material para exames laboratoriais. No entanto, identificou-se nas fiscalizações e nas planilhas

enviadas para o Serviço Oficial outra realidade, ou seja, ainda há falhas na monitoria sanitária dos lotes.

Todas a 21 granjas apresentam desde 2010 programa de vacinação para controle de doenças recorrentes em aves de postura, entre elas micoplasma, bronquite infecciosa aviária, coriza aviária, gumboro, síndrome da queda de postura (EDS), encefalomielite aviária e bouba aviária.

5.2.3.8 Distância entre as granjas e distância dos galpões às estradas

As granjas da região das Terras Altas da Mantiqueira foram construídas próximas umas das outras e sem o isolamento adequado entre os núcleos de unidade de produção. Consequentemente, a região foi considerada pelo SVO como uma única unidade epidemiológica. Paralelamente, residências foram construídas nos arredores das granjas, dando origem a bairros residenciais, como é o caso do "Jardins", localizado em Itanhandu (Figura 16) e também da localidade denominada " Pé do Morro", que faz divisa entre os municípios de Itanhandu e Passa Quatro (Figura 17).

A distância entre as granjas varia desde 30 metros (granja 17 e granja 21) até 6,5 km (granja 4 e granja 22) em linha reta.

Duas granjas (10%) estão distantes uma da outra menos de 200m em linha reta. Outras duas granjas (10%) estão distantes uma da outra entre 200 a 500 metros em linha reta. Seis granjas (28%) estão distantes umas das outras entre 500 a 1000 metros e 11 (52%) granjas estão acima de 1 km.

Com relação aos galpões, uma granja (5%) os mantém limítrofes a estrada, e outra granja (5%) entre 5 a 10 metros. Dezenove granjas (90%) mantem a distância entre o galpão e a estrada superior a 10 metros.

Apesar de 52% das granjas estarem distante uma das outras acima de 1km e 90% manter os galpões com distância superior a 10 metros da estrada, a proximidade entre as granjas,

residências e estradas vicinais torna o ambiente favorável para a manutenção do VLTI na região, uma vez que as aves infectadas podem manter o contato direto com aves susceptíveis, entre elas as de subsistência criadas nas residências próximas às granjas.

Apesar das granjas terem passado por ampliações e alterações na estrutura dos galpões, não foi observada diferença na distância entre as granjas e na distância entre os galpões e a estrada.



Figura 16. Imagem de satélite do bairro Jardins, em Itanhandu, utilizando o *software* QGIS, na qual podem ser visualizadas cinco importantes granjas da região. Próximas a estas granjas existem casas com aves de subsistência e estradas de fluxo intenso.

5.2.3.9 Cerca de isolamento e tela dos galpões

A IN 56 /2007 determina que o isolamento dos galpões seja feito por cerca de 1 metro de altura, distante cinco metros do galpão e por telas constituídas por malha com abertura inferior a 2,54 cm.

Estes fatores estão entre as medidas mais importantes no controle da LTI, uma vez que o isolamento dos galpões restringe o contato entre aves susceptíveis com aves doentes, materiais e equipamentos contaminados. Na época da notificação do surto, poucas granjas tinham uma adequada cerca de isolamento e as aves ficavam totalmente desprotegidas. Animais domésticos, pessoas e veículos tinham livre acesso às aves.



Figura 17. Imagem de satélite da localidade Pé do Morro, divisa entre Passa Quatro e Itanhandu, na qual estão localizadas cinco importantes granjas da região. Próximas a estas granjas existem casas com aves de subsistência e estradas de fluxo intenso. Imagem obtida pelo *software* QGIS.

Em 2010, 18 granjas (85%) não tinham nenhum tipo de cerca de isolamento dos galpões. Uma granja (5%) tinha cerca de arames com fios separados por distância superior a 30 cm. Em outra granja (5%), os fios de arame tinham distância menor que 30 cm. Apenas uma granja (5%) tinha cerca construída por alambrado. Em 2018, doze granjas (57%) passaram a ter cercas com fios de arame com distância menor que 30 cm. Uma granja (5%) manteve os fios de arame com distância superior a 30 cm. Cinco granjas (24%) construíram cercas com

alambrado ou alvenaria e três (14%) permanecem sem cerca de isolamento. Este é um dos motivos pelos quais estas três granjas permanecem sem autorização para alojamento de aves.

Em 2010, apenas uma granja (5%) possuía tela nos galões com malha inferior a 2,54 cm. Em 2018, dezesseis granjas (76%) ainda passam por adequação dos galpões, sendo 12 com o uso de tela constituída por malha com abertura inferior a 2,54 cm e quatro granjas estão climatizando os galpões. Quatro granjas (19%) permanecem sem telas.

Como uma importante ferramenta de controle de LTI, o ideal seria que além de telar os galpões, todas as granjas fossem isoladas com cerca de alambrado ou alvenaria, associadas a cinturão verde, buscando restringir ao máximo o acesso às aves.

As figuras 18 e 19 ilustram duas situações encontradas na região. Na figura 18 é possível visualizar uma granja sem cerca de isolamento. No momento da vistoria, foi observada a presença de um cão e de um veículo próximos ao galpão das aves.



Figura 18. Granja sem cerca de isolamento, com veículo e cachorro próximos ao galpão de aves.



Figura 19. Granja com cerca adequada ao isolamento das aves.

5.2.3.10 Controle de entrada e saída de pessoas e veículos

À medida que as granjas foram instalando cercas de isolamento, iniciou-se um controle de acesso à granja. Portões foram instalados e placas de restrição de acesso ficaram visíveis aos

que chegavam. Contudo, esta restrição ainda não está totalmente efetiva, pois não há controle de vazio sanitário e algumas granjas abrem os portões de forma indiscriminada.

Com relação ao trânsito de pessoas, dezessete granjas (80%) passaram a controlar, em 2018, a entrada de pessoas nas granjas por meio de placas indicando a restrição de acesso e preenchimento de planilhas com informações sobre quem está chegando à granja. Quatro granjas (20%) permanecem sem o controle de acesso de pessoas.

Sobre o trânsito de veículos, em 2010, apenas uma granja fazia o controle de entrada e saída de veículos utilizando porteiros para inspecionar os veículos, controlar o acesso e manusear o arcolúvio e rodolúvio. Em 2018, treze (62%) granjas passaram a controlar a entrada e saída de veículos por meio de placas indicando a restrição de acesso. Cinco granjas (24%) passaram a utilizar portões e cancelas, além do controle pelo uso de planilhas para registro da entrada e saída. Três granjas (14%) permanecem sem fazer o controle de entrada e saída de veículos.

Em relação à desinfecção de veículos, em 2010, apenas quatro granjas possuíam arcolúvio para desinfecção dos veículos. Em 2018, dez granjas passaram a desinfetá-los com bomba costal e oito granjas instalaram o arcolúvio na entrada da granja ou adquiriram equipamento para limpeza e desinfecção dos veículos sob alta pressão. As três granjas (14%) que não fazem o controle de entrada e saída de veículos também não fazem a desinfecção dos mesmos. Essas três granjas são as que permanecem sem autorização para alojamento de aves.



Figura 20. Veículos sendo desinfetados antes de entrarem na granja. Fonte: IMA, 2018

A figura 20 ilustra veículos sendo desinfetados de duas maneiras distintas. A primeira por uso de rodo e arcolúvio na entrada da granja. A segunda, por meio de equipamento com jato de água de alta pressão, contendo detergentes e desinfetantes.

5.2.3.11 Uso de uniforme

A IN 56/2007 não exige banho e troca de roupa para os funcionários da postura comercial como é feito nas granjas de reprodução, porém algumas adotam esta prática como rotina.Na região das Terras Altas da Mantiqueira, 15 granjas forneciam uniformes aos seus funcionários e tratadores na época do surto. No entanto, era permitido que os mesmos saíssem da granja usando uniforme até suas residências. Em 2018, doze granjas (56%) mantêm esse procedimento, enquanto três granjas (14%) passaram a exigir a troca de roupa na granja apesar do funcionário levar o uniforme para lavar em casa. Duas granjas (10%) possuem lavanderia para que o uniforme fique na granja. Quatro (20%) granjas continuam sem fornecer uniforme.

5.2.3.12 Limpeza do galpão, área externa e controle de pragas e roedores.

Com relação à limpeza da área externa aos galpões, as granjas têm mantido as áreas limpas. Apenas uma granja mantém acúmulo de vegetação e entulho ao redor dos galpões.

Sobre a limpeza e desinfecção dos galpões, em 2010, apenas três granjas (14%) tinham a rotina de limpar e desinfetar os galpões após a saída das aves. Em 2018, as 21 granjas (100%) relatam a realização de limpeza e desinfecção dos galpões após a saída das aves.
O controle de pragas e roedores, desde 2010, tem sido executado em todas as granjas por uma mesma empresa terceirizada sediada em Itanhandu.

5.2.3.13 Controle de tratamento e retirada de esterco

O esterco é um dos maiores problemas para os produtores das granjas da região devido ao imenso volume produzido diariamente.

Em 2010, duas granjas (10%) retiravam o esterco uma única vez, após a saída do lote. Outras duas granjas (10%) retiravam o esterco mais de uma vez ao longo do processo de produção, porém, de forma irregular. Dezesseis granjas (75%) retiravam o esterco com frequência regular. Apenas uma granja (5%) retirava o esterco diariamente. Em 2018, cinco granjas (24%) passaram a retirar o esterco diariamente. O restante manteve a mesma rotina.
Em 2010, apenas uma granja realizava o tratamento do esterco, dentro da própria granja. Em 2018, este número passou para 16 granjas. Quatro granjas mantêm a rotina de realizar a compostagem do esterco em outras duas propriedades, localizadas em Campanha e Itamonte. Uma granja realiza o tratamento em área próxima à granja.

5.2.3.14 Destino das aves mortas

Sobre o destino das aves mortas, em 2010, as 21 granjas utilizavam composteira dentro da propriedade para dar destino às aves mortas. Em 2018, 12 granjas (57%) passaram a utilizar incinerador ou rotoacelerador.

5.3 Resultados do inquérito soroepidemiológico realizado nas granjas de postura consideradas em risco para a ocorrência de LTI.

As aves das treze granjas de postura comercial localizadas no peri-foco e consideradas em risco para a ocorrência de LTI não apresentaram sinais clínicos respiratórios ou sugestivos de LTI, ou mesmo histórico de alteração de mortalidade. Diante disso, as mesmas não foram submetidas à eutanásia para coleta de vísceras e gânglios dos nervos trigêmeos. Algumas aves dos lotes amostrados na área do peri-foco foram sororeagentes ao VLTI com o kit comercial HIPRA. A qPCR foi negativa em todos os lotes.

Aves (n=80) de três granjas foram retestadas com o kit Biochek® e os resultados foram negativos (Tabela 11).

Os resultados foram interpretados como negativos tanto para a doença quanto a infecção pelo VLTI nas aves das granjas do inquérito citado acima. Considerou-se a ausência de sinais

clínicos, qPCR negativa e ausência de aves sororeagentes ao retestar parte dos soros pela técnica de ELISA.

Tabela 11. Resultados sorológicos para o VLTI realizado em aves das granjas de postura consideradas em risco para LTI. Na tabela foi demonstrado o número de aves sororeagentes em cada kit utilizado.

ID granja	Município	*Sorologia para o VLTI (aves positivas/nº de aves)	**Sorologia para o VLTI (aves negativas/nº de aves)
A	Lavras	*07 /13*	*0/20*
B	Nepomuceno	*18 / 22*	*0/20*
C	Santo Antônio do Monte	*10 /14*	
D	Santo Antônio do Monte	*20 / 20*	
E	Santo Antônio do Monte	*15 / 22*	
F	Santo Antônio do Monte	*11 /13*	
G	Divinópolis	*17 / 18*	
H	Divinópolis	*20 /22*	
I	Patrocínio	*15 / 15*	
J	Montes Claros	*12 / 13*	*0/40*
K	Guarani	*15 / 21*	
L	Ouro Fino	*20 / 26*	
M	Viçosa	*23 / 23*	

*(kit HIPRA), **(kit Biocheck)

6. DISCUSSÃO

As ações do SVO-IMA demonstraram ser fundamentais e suficientes para manter a LTI circunscrita às 24 granjas da região das Terras Altas da Mantiqueira, considerando que a região de peri-foco foi mantida sem infecção por todos esses anos (desde 2010).

Desde que a LTI foi notificada pela primeira vez, em novembro de 2010, o IMA intensificou as ações de vigilância nas granjas e no trânsito de aves e de esterco, a fim de evitar a disseminação do VLTI para outras regiões do estado e do país.

Num primeiro momento, foram realizadas medidas sanitárias visando a erradicação do VLTI nas granjas de recria localizadas em Pedralva. Após finalizar o saneamento destas granjas, o alojamento de aves foi monitorado para garantir que não haveria novos focos de LTI nas granjas de recria e naquelas que receberiam suas aves.

Em parceria com a Escola de Veterinária da UFMG, pesquisas foram direcionadas para estudar a influência do uso da vacina recombinante vetorizada contra LTI em Minas Gerais.

Estas pesquisas demonstraram que os surtos de LTI diagnosticados por meio das coletas de vigilância ativa realizadas em 2016 e 2017 se concentraram nas mesmas granjas em que lesões histológicas de LTI foram identificadas nas coletas de vigilância passiva. Demonstrou-se, também, que os surtos foram frequentes após o segundo semestre de 2016, período que coincidiu com a interrupção da dupla vacinação contra LTI associado ao frio intenso e ao diagnóstico de outras doenças, como a micoplasmose, coriza infecciosa e colibacilose respiratória (Santos, 2019).

Corroborando com estes resultados, as quatro granjas que apresentaram lesões histológicas compatíveis com LTI nos inquéritos realizados pelo SVO nos anos de 2016 e 2017 também estão entre aquelas incluídas na citação anterior.

A detecção do DNA do VLTI nas aves de treze granjas da região interditada, no inquérito soroepidemiologico, indica que o vírus permanece latente e presente nas aves na região. Este fator constitui um risco potencial, pois o VLTI pode ser reativado por situações que causem desconforto para as aves, incluindo o aumento da densidade das granjas, alterações climáticas e a ocorrência de outras doenças (Dufour-Zavala, 2008).

A análise da taxa de mortalidade indicou que a média mensal de aves mortas está acima do esperado e não está relacionada a diagnóstico positivo de LTI pela histopatologia. As duas granjas que utilizaram o protocolo de duas doses de vacina (HVT-LT e FPV-LT) pelo período de três anos, antes de interromper essa prática, apresentaram a menor taxa de mortalidade em comparação ao período em que utilizaram somente a vacina HVT-LT. Entretanto, considerou-se a mortalidade total e nessas granjas, em diversos surtos de doença respiratória, foram diagnosticadas outras doenças como a micoplamose e aerossaculite compatível com colibacilose (Santos, 2019).

Apesar das granjas com diagnóstico positivo para a LTI terem resultados satisfatórios na avaliação de biosseguridade, trata-se de estabelecimentos com grande número de aves

alojadas. Consequentemente, o fluxo de pessoas, o tráfego de caminhões, além da entrada de vendedores de insumos e empresas prestadoras de serviço torna-se intenso. Um cenário comumente relatado para a entrada de patógenos como o VLTI nas granjas é a poeira com vírus em suspensão, cama não tratada e o transporte de granja a granja por visitantes, veículos infectados e os próprios tratadores em contato com outras aves senão, as da própria granja (Volkova et al., 2012).

De forma geral, os resultados referentes à avaliação das práticas de biosseguridade nas granjas da região interditada indicaram progresso considerável quando comparados o período entre a primeira notificação da LTI e a situação atual.

Contudo, riscos específicos para a entrada de patógenos foram identificados nas granjas da região estudada, tais como: falhas no controle de entrada e saída de pessoas e veículos, falhas na remoção de esterco, proximidade entre as granjas, proximidade dos galpões às estradas, além da proximidade das granjas a residências com aves de subsistência.

O isolamento da granja, incluindo não só a parte das instalações (cercas e telas adequadas), mas também a autorização prévia para que terceiros entrem na granja, procedência das aves, e proibição do uso compartilhado de equipamentos e ferramentas entre as unidades de produção é uma das formas de melhorar a biosseguridade de uma granja (Halveorson, 2011). Na região, apesar dos portões e placas indicarem a restrição do acesso, ainda é possível verificar a entrada de pessoas alheias a produção de forma indiscriminada. Não há evidências de que seja feito compartilhamento de equipamentos entre as empresas, porém esta ainda é uma rotina utilizada entre as unidades de produção de uma mesma empresa.

Ainda com relação ao isolamento das granjas, as cercas exigidas na IN 56/2017 têm como principal objetivo restringir a entrada de pessoas e animais domésticos na área de produção. Contudo, como medida adicional de biosseguridade, além das cercas de arame e/ou alambrado, seria importante o plantio de cinturão verde para aumentar o isolamento das granjas da região interditada, considerando não só a proximidade entre as mesmas, mas também a proximidade dos galpões com as rodovias e com residências que possuem aves de subsistência.

Galpões climatizados que facilitam a liberação das penas para o ambiente externo é outro ponto de risco para a disseminação do VLTI (Volkova, 2012). Considerando que as granjas da região ficam próximas umas das outras, as penas que são liberadas pelo exaustor dos galpões climatizados representam potencial risco de transmissão do VLTI. As aves de uma das granjas com galpões climatizados, na qual foi verificada em vistoria o escape de penas pelo exaustor, obtiveram resultado positivo pela PCR. Esta granja está distante de outras duas granjas por aproximadamente 30 e 1000 metros, respectivamente.

Os funcionários das granjas da região deixam as unidades de produção utilizando os uniformes para que sejam lavados em casa. Em situações ideais de biosseguridade, além dos funcionários trocarem de roupa, os mesmos devem tomar banho antes de terem contato com as aves. Em hipótese alguma deveria ser autorizada a saída dos tratadores da granja com os uniformes, mesmo que seja para levá-los para lavar em casa. Ademais, o contato do visitante ou tratador com pássaros ou outras aves não deve ser permitido por 72 horas antes de entrar em instalações avícolas (Dufour-Zavala, 2008, Halveorson, 2011, Volkova, 2012).
Com relação à limpeza e desinfecção dos galpões, a desinfecção de bebedouros também é uma etapa importante na eliminação do VLTI dos galpões, prática adotada com menor frequência em granjas de ciclo contínuo, incluindo as da região das Terras Altas da Mantiqueira. O VLTI pode sobreviver em biofilmes dos bebedouros por vários dias **(**Ou et al., 2011) e em muco da traqueia por até três meses entre 20 a 23 ºC em superfície de madeira, se protegido da luz (Jordan et al., 1966, Ou et al., 2011).

As granjas da região interditada realizam o tratamento do esterco por compostagem, medida que certamente contribui para evitar a disseminação de patógenos. O aquecimento da cama dos galpões por 24 h a 38 ºC, utilizando desinfetantes ou a compostagem da cama, por no mínimo 38 ºC durante cinco dias são técnicas de manejo para auxiliar na eliminação do VLTI dos galpões (Ou et. al., 2011). Contudo, considerando, a distância percorrida pelos caminhões de esterco de algumas granjas e o trânsito de aves de descarte a região representa risco potencial de disseminação do vírus da LTI.

Novas evidências obtidas a partir das análises de sequências genômicas completas de estirpes vacinais e de campo indicam que a recombinação espontânea natural entre vírus vacinais e de campo pode resultar no surgimento de novas estirpes virulentas de VLTI (Coppo, 2013). Com base nesses estudos, considera-se importante que as granjas adotem e mantenham medidas rigorosas de biosseguridade para evitar a disseminação de vírus vacinal e de campo para outras regiões.

A OIE estabelece um período mínimo de vazio sanitário de 14 dias (OIE, 2014) após a limpeza e desinfecção dos galpões. Considerando o intervalo entre lotes como o intervalo entre a retirada das aves, limpeza e desinfecção dos galpões somados ao período de vazio sanitário, o alojamento de aves deveria ocorrer ao menos 21 dias depois de retirada das aves, prática não adotada pelos produtores da região do presente estudo.

Diagnóstico rápido, vacinação associada a procedimentos efetivos de biosseguridade e cooperação entre o setor produtivo e o SVO são essenciais para o controle da LTI. Relatos sobre o controle da LTI descrevem que resultados satisfatórios somente foram obtidos após adoção de práticas rigorosas de biosseguridade e aumento do período de vazio sanitários entre os lotes (Ou et al., 2011).

Constatando que a adoção de práticas relacionadas à biosseguridade ainda é limitada em algumas granjas e considerando os diversos estudos que têm demonstrado a importância da transmissão indireta (via fômites) do VLTI para aves susceptíveis, serão necessárias medidas adicionais de biosseguridade na região das Terras Altas da Mantiqueira.

A investigação clínica associada aos exames laboratoriais nas granjas externas à região interditada revelou que a doença não está ocorrendo nas principais granjas de postura das outras regiões do estado de Minas Gerais. Os resultados de detecção molecular do VLTI foram negativos em todas essas granjas, sustentando a afirmação da não ocorrência da doença em outras regiões. Esses dados indicam que a medidas adotadas pelo SVO podem ter contribuído para a não ocorrência de surtos de LTI em outras regiões do estado até o presente momento.

7. CONCLUSÕES

O VLTI permanece ativo na região, portanto, há necessidade de manter a vigilância e buscar novas melhorias para restringir o risco de surtos da doença na região e disseminação do VLTI para outras regiões do estado e do país.

A biosseguridade nas granjas da região das terras altas das Mantiqueira teve expressiva melhora ao longo do período de estudo, porém medidas adicionais devem ser implementadas nestas granjas como forma de mitigar os riscos e bloquear a ocorrência da doença em diferentes galpões dentro de uma mesma granja, entre as granjas da região e principalmente além da região acometida.

O uso da vacina recombinante nas granjas da região interditada aparentemente vem contribuindo para o controle dos surtos de LTI, contudo não garante que a região fique livre de novos surtos.

O vírus da LTI permanece restrito a região das terras altas da Mantiqueira, confirmando a efetividade das medidas de bloqueio de foco tomadas pelo SVO estadual e federal.

A metodologia empregada para avaliação do nível de biosseguridade das granjas demonstrou ser útil para esta avaliação e novos estudos devem testar melhor sua validação.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ARAÚJO, L.M.G., SILVA, R.C.F., SANTOS, J.A., BONACCORSI, R.A., BITTENCOURT, N.R.A., GOMES, T.A. Estudo sobre um foco de Laringotraqueíte infecciosa das galinhas no município de Petropólis/RJ;características fundamentais da doença e do vírus. PESAGRO-RIO. 16 v.10, p.1–4, 1982.

BAGUST, T.J. Laryngotracheitis (Gallid-1) herpesvirus infection in the chicken. Latency establishment by wild and vaccine strains of ILT virus. *Avian Pathol*. v. 15, p.581–595, 1986.

BAGUST, T.J., CALNEK, B.W., FAHEY, K.J. Gallid-1 Herpesvirus Infection in the Chicken. 3. Reinvestigation of the Pathogenesis of Infectious Laryngotracheitis in Acute and Early Post-Acute Respiratory Disease. *Avian Diseases*, v. 30, No. 1, p. 179-190, 1986.

BRASIL. Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA. Portaria n. 1107, de 30 de novembro de 2010. Estabelece Normas Para Atendimento a Suspeita ou Casos Confirmados de Laringotraqueíte Infecciosa das Aves, Belo Horizonte,2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 50/2013. Altera a lista de doenças passíveis da aplicação de medidas de defesa sanitária animal, previstas no art. 61 do Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal, publicado pelo Decreto no 24.548, de 3 de julho de 1934.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 56/2007. Estabelece os Procedimentos para Registro, Fiscalização e Controle de Estabelecimentos Avícolas de Reprodução e Comerciais.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nota Técnica DSA n ° 91 de 17 de dezembro de 2010. Ocorrência de laringotraqueite infecciosa nos municípios de Itanhandu, Itamonte, Pouso Alto, Passa Quatro e Pedralva, região sul do estado de Minas Gerais.
BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nota Técnica CSA 14/2011 de 24 de maio de 2011. Autorização para o uso de vacina recombinante de laringotraqueite infecciosa aviária – LTI na região das Terras Altas da Mantiqueira – sul de MG.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nota técnica CSA 16/2011 de 05 de setembro de 2011. Alojamento de aves de postura nas granjas de recria do município de Pedralva-MG, envolvidas no foco de laringotraqueite infecciosa aviaria -LTI na região das Terras Altas da Mantiqueira- sul de MG.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nota técnica CSA 05/2012 de 06 de fevereiro de 2012. Alojamento de aves de postura nas granjas de recria do município de Pedralva/MG, envolvidas no foco de laringotraqueite infecciosa aviária – LTI na região das Terras Altas da Mantiqueira – sul de MG

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Memorando nº 10/2016/CIEP/DSA/SDA/GM/MAPA de 14 de setembro de 2016. Encerramento do foco de laringotraqueite infecciosa aviária no município de Pedralva/MG

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 08/2017. Altera os Procedimentos para Registro, Fiscalização e Controle de Estabelecimentos Avícolas de Reprodução e Comerciais.

BUCHALA, F.G. *Planejamento, implantação e administração de medidas de defesa sanitária animal para o controle da laringotraquíte infecciosa aviária, de 2002 a 2006, na região de Bastos, Estado de São Paulo, Brasil.2008*. 157f. PhD thesis. Faculdade de Ciências agrárias e veterinárias, Universidade Estadual Paulista

CHACÓN, J. L., FERREIRA, A. J. P. Differentiation of field isolates and vaccine strains of infectious laryngotracheitis virus by DNA sequencing. *Vaccine*, v. 27, p. 6731-6738, 2009

COPPO, M.J.C., HARTLEY, C.A.; DEVLIN, J.M. Immune responses to infectious laryngotracheitis virus. *Developmental and Comparative Immunology*, 41, p.454–462, 2013.

COUTO, R. de M., PREIS, I. S., BRAGA, J. F. V., BRASIL, B. S. A. F., Drummond, M. G., MARTINS, N. R. da S., Ecco, R. . Molecular characterization of infectious laryngotracheitis virus in naturally infected egg layer chickens in a multi-age flock in Brazil. *Archives of Virology*, *160*, *241–252*, 2015.

COVER, M. S. The Early History of Infectious Laryngotracheitis. *Avian Dis*. v. 40(3), p. 494-500, 1996.

CRAWSHAW, G. J., BOYCOTT, B. R. Infectious laryngotracheitis in peafowl and pheasants. *Avian Dis*. v.26, p.397–401, 1982.

DUFOUR-ZAVALA, A. L. Epizootiology of Infectious Laryngotracheitis and Presentation of an Industry Control Program. *Avian Dis*. v. 3(1), p. 3–5, 2008.

GARCÍA, M. Current and future vaccines and vaccination strategies against infectious laryngotracheitis (ILT) respiratory disease of poultry. *Vet. Microbiol*. v. 206, p. 157–162, 2017.

GUY, J. S., BARNES, H. J. e SMITH, L. G. Increased virulence of modified–live infectious laryngotracheitis vaccine virus following bird-to bird passage. *Avian Dis*. v.35, p.348–3550,1991.

GUY, J., e GARCÍA, M. Infectious laryngotracheitis virus. *Disease. of poultry*, v12. p.137-152, 2008

GUY, J., M. GARCÍA, e S.SPATZ. Infectious laryngotracheitis virus. *Disease. of poultry*, v13. p.161-180, 2013

HALVORSON, D. A. Biosecurity on multi-age egg production complex: a 15-year experience. 23 Avian Dis. v.55, p.139–142, 2011.

HAYASHI, S., ODAGIRI, Y., KOTANI, T., et al. Pathological changes of tracheal mucosa in chickens infected with infectious laryngotracheitis virus. *Avian Dis.*, v. 29, n. 4, p. 943-950, 1985.

HERGOT, I.G. *Surto de laringotraqueite infecciosa das aves em Minas Gerais: Aspectos clínicos, epidemiológicos e ações adotadas para o seu controle*.2012, 39f. Trabalho de conclusão de Curso de Pós Graduação *Lato Sensu* em Defesa Sanitária Animal para obtenção do título de especialista em Defesa Sanitária Animal. Universidade Federal de Lavras.

HIPÓLITO, O. *et al*. Isolamento e identificação do vírus da Laringotraqueite infecciosa das galinhas no Brasil. *Cong Bras Microbiol*; Rio de Janeiro, RJ. Brasil. p. 16. 1974.

ICTV- International Committee on Taxonomy of Viruses. ICTV 9th report. Herpesviridae [cited 2018 Feb 16]. 2011. Available from: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses-2011/w/dsdna_viruses/91/herpesviridae.

JOHNSON, Y.J., COLBY M.M., TABLANTE, N.L., et al. Application of Commercial and Backyard Poultry Geographic Information System Databases for the Identification of Risk Factors for Clinical Infectious Laryngotracheitis in a Cluster of Cases on the Delmarva Peninsula. *International Journal of Poultry Science* 3 (3): p. 201-205, 2004.

JOHNSON, D. I. *et al*. Protection against infectious laryngotracheitis by in ovo vaccination with commercially available viral vector recombinant vaccines. *Avian Dis*. v. 54, n. 4, p. 1251–1259, 2010.

JORDAN, F.T. A review of the literature on infectious larynotracheitis (ILT). *Avian Dis*. v.10, p.1–26, 1966.

MENENDEZ, K. R., GARCÍA, M., SPATZ, S., e TABLANTE, N. L. Molecular epidemiology of infectious laryngotracheitis: a review. *Avian Pathol*. v.43(2), p.108–117, 2014.

KINGSBURY, F. W., JUNGHERR, E. L. Indirect transmission of infectious laryngotracheitis in chickens. *Avian Dis* v. 2, n. 1, p. 54-63, 1958

MORENO, A., PICCIRILLO, A., MONDIN, A. Epidemic of infectious laryngotracheitis in Italy: characterization of virus isolates by PCR - restriction fragment length polymorphism and sequence analysis. *Avian Disease*, v. 54, n. 4, p. 1172-7, 2010.

NEIGHBOUR, N.K., NEWBERRY L.A., BAYYARI G.R., et al. The effect of microaerosolized hydrogen peroxide on bacterial and viral poultry pathogens. *Poultry Science* 73, p.1511–1516, 1994.

OIE, Office International des Epizooties. Avian Infectious Laryngotracheitis. Terrestrial Manual, 2.3.3. p.1-11, 2014

OIE, Office International des Epizooties, disponivel em. https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/wahis-portal-animal-health-data,2019.

OU, S., GIAMBRONE J. J., MACKLIN, K. S. Infectious laryngotracheitis vaccine virus detection in water lines and effectiveness of sanitizers for inactivating the virus. *The Journal of Applied Poultry Research*. V20, Issue 2, p. 223‑230, 2011 https://doi.org/10.3382/japr.2010-00300

PREIS, I. S. *et al*. Outbreak of infectious laryngotracheitis in large multi-age egg layer chicken flocks in Minas Gerais, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* v. 33(5), p. 591–596, 2013.

SANTOS, W.H.M., Influência das vacinas recombinantes vetorizadas no controle da laringotraqueíte infecciosa em galinhas de postura de uma área endêmica e com alta densidade populacional. 2019. 84f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SELLERS, H.*et al*. Mild infectious laryngotracheitis in broilers in Southeast. *Avian Dis*. v.48, p.430-436, 2004.

SOARES, L.A., PEREIRA, O.A.C., HIPÓLITO, O. Characterization of the first strain of infectious laryngotracheitis virus (ILTV) in Brazil chicken. *Revue of Microbiology*.; v.11, p.104-109, 1980.

TOCANTINS, B. B. *Laringotraqueíte infecciosa aviária em criações não tecnificadas de galinhas no Distrito Federa*l. 2014. 98f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de Brasília, Brasília – DF.

VAGNOZZI, A. *et al*. Protection induced by commercially available live-attenuated and recombinant viral vector vaccines against infectious laryngotracheitis virus in broiler chickens. *Avian Pathol*. v.41, p.21–31, 2012.

VARGAS, R.E.S. *Laringotraqueíte infecciosa das aves: estudo epidemiológico em plantéis avícolas no Estado do Rio Grande do Sul*. 1995. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) 22 - Universidade Federal de Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS.

VOLKOVA, V., THORNTON, D., HUBBARD, S.A., et al. Factors Associated with Introduction of Infectious Laryngotracheitis Virus on Broiler Farms During a Localized Outbreak. *Avian Diseases*, v.56, nº 3, p. 521-528, 2012.

WATRACH, A.M., HANSON, L.E. WATRACH, M.A. The Structure of infectious laryngotracheitis virus. *Virology*, v. 21, p. 601-608, 1963.

WINTERFIELD, R.W., GWAN SO, I. Susceptibility of Turkeys to Infectious Laryngotracheitis. *Avian Diseases*, v. 12, nº1, p. 191-202, 1698.

YAMADA, S., MATSUO, K., FUKUDA, T., UCHINUNO, Y. Susceptibility of ducks to the virus of infectious laryngotracheitis. *Avian Diseases*. v.24, p.930–938, 1980.

9. ANEXOS

9.1

FATOR AVALIADO	SCORE 0	SCORE 1	SCORE 2	SCORE 3
ENTREGA DAS GTA'S DE ORIGEM AO SVO PARA LANÇAMENTO NO SIDAGRO	NÃO HÁ ENTRGA DE FORMA REGULAR	ENTREGA NO MOMENTO DO DESCARTE OU TRANSFERÊNCIA DAS AVES	MENSALMENTE	IMEDIATAMENTE APÓS CHEGADA DAS AVES
FICHA DE LOTE POR GALPÃO	NÃO HÁ CONTROLE DOS ÍNDICES ZOOTÉCNICOS DA GRANJA	CONTAGEM REALIZADA APENAS NA SAÍDA DO LOTE	USO DE SISTEMA PROPRIO DA GRANJA	FICHA DE LOTE PARA CADA GALPÃO
NÚMERO DE LOTES DENTRO DE UM MESMO GALPÃO	ACIMA DE 4	ATÉ 3 LOTES	ATÉ 2 LOTES	SOMENTE 1 LOTE
PERIODO DE VAZIO SANITÁRIO ENTRE LOTES	INFERIOR A 1 MÊS	1 A 2 MESES	3 A 4 MESES	ACIMA DE 4 MESES
PERIODO DE PRODUÇÃO DAS AVES	ACIMA DE 120 SEMANAS	ENTRE 100 E 120 SEMANAS	ENTRE 90 E 100 SEMANAS	ENTRE 80 E 90 SEMANAS
ATUAÇÃO DO MÉDICO VETERINARIO RESPONSAVEL TECNICO	NÃO TEM MÉDICO VETERINÁRIO RT	VENDEDOR DE INSUMOS OU DE OUTRA AREA QUE PRESTA ASSITENCIA DE FORMA SECUNDÁRIA	VETERINARIO QUE COMPARTILHA ASSITENCIA A OUTRAS GRANJAS (OUTRAS EMPRESAS)	VETERINÁRIO EXCLUSIVO DA GRANJA (EMPRESA)
PRESCRIÇÕES E OBSERVAÇÕES REALIZADAS PELOS MEDICOS VETERINARIOS RESPONSAVEIS TECNICOS	NÃO TEM		EXISTE, POREM DE FORMA ESPORÁDICA	EXISTE E O USO É FREQUENTE
PROGRAMA VACINAL	NÃO TEM PROGRAMA DE VACINAÇÃO			EXISTE PROGRAMA DE PROGRAMA DE VACINAÇÃO

FATOR AVALIADO	SCORE 0	SCORE 1	SCORE 2	SCORE 3
CONTROLE DE OUTRAS DOENÇAS	NÃO TEM MONITORAMENTO		MONITORAMENTO PROGRAMADO. POREM REALIZADO DE FORMA ESPORÁDICA	MONITORAMENTO PROGRAMADO. REALIZADO COM FREQUENCIA
DISTÂNCIA ENTRE OUTRAS GRANJAS GRANJA	ABAIXO DE 200 METROS	ENTRE 200 A 500 METROS	ENTRE 500 A 1000 METROS	ACIMA DE 1 KM
DISTÂNCIA ENTRE GALPÕES E ESTRADA	GALPÃO LIMÍTROFE A ESTRADA	DISTANCIA INFERIOR A 5 METROS	DISTANCIA ENTRE 5 A 10 METROS	DISTÂNCIA SUPERIOR A 10 METROS
CERCA DE ISOLAMENTO	SEM CERCA DE ISOLAMENTO	FIOS DE ARAME COM DISTÂNCIA ENTRE ELES SUPERIOR A 30 CM	FIOS DE ARAME COM DISTANCIA ENTRE ELES INFERIOR A 30 CM	ALAMBRADO OU ALVENARIA
TELA DOS GALPÕES	SEM TELA	TELA COM MALHA SUPERIOR A 2,54 CM	TELA COM MALHA INFERIOR A 2,54	GALPÃO CLIMATIZADO
CONTROLE DE ENTRADA E SAÍDA DE PESSOAS	SEM CONTROLE	PLACAS INDICANDO A RESTRIÇÃO DE ACESSO	PLACAS INDICANDO A RESTRIÇÃO DE ACESSO, CONTROLE POR PREECHIMENTO DE PLANILHAS	CONTROLE EFETIVO (DOCUMENTOS AUDITAVEIS, PLACAS DE RESTRIÇÃO DE ACESSO, EXIGÊNCIA DE VAZIO SANITARIO
CONTROLE DE ENTRADA E SAÍDA DE VEICULOS	SEM CONTROLE	CONTROLE FEITO APENAS POR CANCELA OU PORTÃO AUTOMÁTICO		CONTROLE EFETIVO (DOCUMENTOS AUDITAVEIS, CANCELA E/OU PORTÃO E FISCALIZAÇÃO DO VEICULO NA ENTRADA
DESINFECÇÃO DE VEÍCULOS	NÃO É FEITA	RODOLUVIO COMUNITÁRIO	USO DE BOMBA COSTAL NA ENTRADA DA GRANJA	USO DE RODOLÚVIO NA ENTRADA DA GRANJA

FATOR AVALIADO	SCORE 0	SCORE 1	SCORE 2	SCORE 3
CONTROLE DE USO UNIFORMES	SEM UNIFORME	USO DE UNIFORME, POREM SEM TROCA DE ROUPA DENTRO DA GRANJA (GRANJEIRO VAI PARA CASA COM UNIFORME)	USO DE UNIFORME, COM TROCA DE ROUPA DENTRO DA GRANJA (GRANJEIRO LEVA PARA CASA)	USO DE UNIFORME, COM TROCA DE ROUPA DENTRO DA GRANJA. UNFORME É LAVADO DENTRO DA PROPRIA GRANJA
LIMPEZA DA AREA EXTERNA DOS GALPÕES	EXCESSO DE MATO AO REDOR DO GALPÃO, COM ACUMULO DE ENTULHO E OUTROS MATERIAIS AO REDOR			AREA CAPINADA E SEM ENTULHOS E OUTROS MATERIAIS
LIMPEZA DOS GALPÕES APÓS SAIDA DAS AVES	NÃO É REALIZADA POIS HÁ MAIS DE UM LOTE NO GALPÃO	REALIZADA DE FORMA IRREGULAR		LIMPEZA E DESINFECÇÃO DE TODO O GALPÃO
CONTROLE DE ROEDORES	SEM CONTROLE	PRESENÇA DE ARMADILHAS, POREM AUSENCIA DE DOCUMENTOS COMPROBATORIOS	PRESENÇA DE ARMADILHAS E DE DOCUMENTOS COMPROBATORIOS	CONTROLE REALIZADO POR EMPRESA TERCEIRIZADA
FREQUENCIA DE RETIRADA DO ESTERCO	APÓS SAIDA DO LOTE	MAIS DE UMA VEZ AO LONGO DO PERÍODO DE PRODUÇÃO POREM COM FREQUENCIA IRREGULAR	MAIS DE UMA VEZ AO LONGO DO PERÍODO DE PRODUÇÃO POREM COM FREQUENCIA REGULAR	DIÁRIO
TRATAMENTO DO ESTERCO	NÃO FAZ TRATAMENTO TÉRMICO	TRATAMENO TERMICO REALIZADO EM OUTRA PROPRIEDADE	TRATAMENTO TÉRMICO REALIZADO PROXIMO A GRANJA	TRATAMENTO TERMICO REALIZADO EM AREA DENTRO DA GRANJA
DESTINO DAS AVES MORTAS	FOSSA SEPTICA OU VALA	COMPOSTEIRA EM OUTRA PROPRIEDADE	COMPOSTEIRA DENTRO DA AREA DA GRANJA	INCINERADOR OU ROTOACELERADOR

9.2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Senhor(a) Professor(a) Roselene Ecco,

Após análise de sua solicitação de avaliação do projeto LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA AVIÁRIA: MONITORAMENTO DE UMA ÁREA INTERDITADA PARA CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA DOENÇA, submetido a esta comissão pelo protocolo 78 / 2014, a CEUA decidiu **aprovar** a sua solicitação.

Justificativa: Aprovado na reunião do dia 11/08/2014.

Para acessar ao seu projeto clique no link:
https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/

Belo Horizonte, 12/08/2014.

Atenciosamente.

Sistema CEUA-UFMG
https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

9.3

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG

COLEGIADO DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO



Av. Antônio Carlos 6627 – CP 567 – CEP 31270-901 – Belo Horizonte – MG

FONES (31)3409 2261 – FAX (31)3409 2930

TERMO DE CONSENTIMENTO

Pesquisador Responsável: Roselene Ecco

Título da pesquisa: Laringotraqueíte infecciosa aviária: monitoramento de uma área interditada para controle da doença

Identificação da granja: _____

Proprietário/ Responsável: _____

Número de cadastro IMA: _____

Eu _____, CPF _____ confirmo que a Profa. Roselene Ecco explicou os objetivos desta pesquisa, bem como a forma de participação. As alternativas para minha participação também foram discutidas. Eu li e compreendi este termo de consentimento, portanto, eu concordo em dar meu consentimento para participar como voluntário deste estudo.

_____, _____ de _____ de _____

_____

(Nome do participante)

_____

Profª. Drª. Roselene Ecco

Coordenadora