

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Marcelo Coelho Lopes

ALTERAÇÕES HEPÁTICAS EM AVES DOMÉSTICAS (*Gallus gallus domesticus*): ESTUDO RETROSPECTIVO E PROSPECTIVO DE 300 CASOS

Belo Horizonte
2021

Marcelo Coelho Lopes

ALTERAÇÕES HEPÁTICAS EM AVES DOMÉSTICAS (*Gallus gallus domesticus*): ESTUDO RETROSPECTIVO E PROSPECTIVO DE 300 CASOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Patologia Animal

Orientador: Prof.^a Dr.^a Roselene Ecco

Belo Horizonte
2021

L864a Lopes, Marcelo Coelho, 1991-
 Alterações hepáticas em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*): estudo retrospectivo e
 prospectivo de 300 casos/ Marcelo Coelho Lopes, - 2021.

121 f.:il

 Orientadora: Roselene Ecco
 Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas
 Gerais.
 Área de Concentração: Patologia Animal.

 1- Aves domésticas - Doenças - Teses - 2. Patologia Animal - Teses - I. Ecco, Roselene -
 II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - III. Título.

CDD – 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

MARCELO COELHO LOPES

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 Patologia Animal.

Aprovado(a) em 29 de abril de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Roselene Ecco - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Oliveira Caetano de Freitas Neto

Dr.(a). Renata Assis Casagrande

Dr.(a). Juliana Fortes Vilarinho Braga

Dr.(a). Nelson Rodrigo da Silva Martins



Documento assinado eletronicamente por **Roselene Ecco, Professora do Magistério Superior**, em 29/04/2021, às 13:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Assis Casagrande, Usuário Externo**, em 29/04/2021, às 14:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Oliveira Caetano de Freitas Neto, Professor do Magistério Superior**, em 29/04/2021, às 14:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliana Fortes Vilarinho Braga, Usuário Externo**, em 29/04/2021, às 15:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nelson Rodrigo da Silva Martins, Professor do Magistério Superior**, em 29/04/2021, às 22:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0688136** e o código CRC **62DEA03F**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus, pelas inúmeras bênçãos a mim concedidas, em especial, a conclusão desta etapa. Por não ter faltado principalmente saúde, a mim e a minha família, especialmente nos momentos em que estive ausente. “Até aqui nos ajudou o Senhor” Samuel 7:12.

Aos meus pais, Antônio Godoberto Lopes e Susana Coelho Lopes, meus maiores presentes desta vida. Obrigado pelo amor, incentivo e por viverem este e inúmeros outros sonhos comigo. Tudo que tenho e sou, devo a vocês.

Aos meus irmãos, Juliano e Toninho, obrigado pelo apoio e por me incentivarem a ser uma pessoa cada vez melhor, não só profissionalmente, mas como ser humano. Me inspirem em vocês. Aninha, obrigado pelo carinho e pureza. A “esa” e aos demais familiares que sempre estão na torcida, amo todos vocês.

Aos meus queridos amigos de Patos: Júnior, Talita, Andressa, Lori ... meus incentivadores, apoiadores, “psicólogos”, muito obrigado por estarem comigo e acreditarem em mim, desde o começo, antes mesmo da graduação. Vocês sabem o quanto eu sonhei com esta etapa. Não só sabem, mas viveram comigo, mesmo que por alguns “Kms” de distância, mesmo que por alguns “sumiços”. Aos queridos de Uberaba: Sr. Hélio e professor Humberto, muita saudade e gratidão por tudo que fizeram por mim.

A minha orientadora Roselene Ecco, obrigado por aceitar me orientar, pela paciência, por dividir e ceder seu tempo e sua experiência. Cresci muito ao seu lado. Admiro sua força de vontade, seu amor e responsabilidade pela docência e pela patologia.

Aos demais professores e funcionários da Escola de Veterinária, em especial aos do Setor de Patologia; bem como ao programa de pós-graduação em Ciência Animal, muito obrigado pelas oportunidades e conhecimentos compartilhados, vocês fazem total diferença na trajetória dos alunos que passam por esta escola e sem dúvida contribuem para que a EV-UFMG se torne esta referência em ensino e pesquisa.

Ao “Ecco team”, me sinto privilegiado em poder conviver e aprender diariamente com vocês: Camila, Clarissa, Dayse, Maira e Matheus (eterno).

Aos demais colegas e amigos da patologia, como foi gratificante dividir este período com vocês. Fui muito bem recebido e tenho um carinho por todos. Em especial por Agna e Carol, pelo acolhimento logo nos primeiros dias, e a amizade no decorrer dos dois anos. Jefferson, Léo, Sóstenes, pela companhia do bandeirão à sala de necropsia, cresci e aprendi muito com vocês. A Helô e Paula, pelos inúmeros momentos compartilhados, momentos não tão fáceis, mas que com a humildade, força de vontade e amizade de vocês, tudo foi superado. Aos residentes que tive a oportunidade de acompanhar durante estes dois anos, sempre muito solícitos: Samantha, Clarissa, Cadu, Lucas, Eric e Nayara. A “família oinc” pela companhia, ajuda e momentos de descontração na 213.

Enfim, a todos que de alguma forma me ajudaram, torceram e torcem por mim, o meu muito obrigado.

Epígrafe

“Pequeno que sou, trago aqui um monte de sonhos gigantes...” Saulo Fernandes

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. FÍGADO.....	17
2.1.1. ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS	18
2.2. DOENÇAS HEPÁTICAS	20
2.2.1. Doenças degenerativas.....	20
2.2.1.1. Degeneração hidrópica.....	20
2.2.1.2. Degeneração glicogênica	20
2.2.1.3. Degeneração gordurosa.....	20
2.2.2. Doenças metabólicas	21
2.2.2.1. Hemossiderose	21
2.2.2.2. Amiloidose	21
2.2.2.3. Hepatopatia úrica	23
2.2.2.4. Síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico.....	23
2.2.3. Doenças de causa tóxica	24
2.2.3.1. Hepatopatias agudas.....	24
2.2.3.2. Hepatopatia crônica.....	24
2.2.4. Doenças inflamatórias	25
2.2.4.1. Bacterianas	25
2.2.4.1.1. Salmonelose.....	25
2.2.4.1.2. Colibacilose	27
2.2.4.1.3. Estreptococose	28
2.2.4.1.4. Pasteurelose	29
2.2.4.2. Virais.....	29
2.2.4.2.1. Hepatite por corpúsculo de inclusão.....	29
2.2.4.3. Protozoários	30

2.2.4.3.1. Histomoníase	30
2.2.5. Neoplasias	31
2.2.5.1. Doença de Marek	31
2.2.5.2. Leucose	32
2.2.5.3. Neoplasias primárias	33
2.3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DAS LESÕES NO FÍGADO.....	35
3. MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1. Amostras	37
3.2. Coleta de dados.....	37
3.3. Necropsia e histopatologia	38
3.4. Histoquímica.....	38
3.5. Imuno-histoquímica	39
3.6. Bacteriologia	39
3.7. Genotipagem para identificação de <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> sorotipo Gallinarum biovar Gallinarum ou Pullorum	40
3.7.1. Extração do DNA bacteriano.....	40
3.7.2. PCR <i>duplex</i>	41
3.8. Extração de DNA pelo método sílica	42
3.9. Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	42
3.10. Sequenciamento.....	43
3.11. Microscopia eletrônica (ME).....	43
4. RESULTADOS	43
4.1. População de aves do estudo	43
4.2. Diagnóstico.....	44
4.3. Frangos de corte	46
4.3.1. Alterações degenerativas.....	47
4.3.1.1. Histórico clínico.....	47
4.3.1.2. Achados anátomo-histopatológicos	48
4.3.1.3. Exames auxiliares	48
4.3.2. Doenças bacterianas	50
4.3.2.1. Histórico clínico.....	50
4.3.2.2. Achados anátomo-histopatológicos	50

4.3.2.3. Exames auxiliares	51
4.3.3. Alterações indicativas de causa tóxica	52
4.3.3.1. Histórico clínico	52
4.3.3.2. Achados anátomo-histopatológicos	52
4.3.4. Doenças virais	52
4.3.4.1. Histórico clínico	53
4.3.4.2. Achados anátomo-histopatológicos	53
4.3.4.3. Exames auxiliares	55
4.4. Galinha de postura	55
4.4.1. Doenças bacterianas	56
4.4.1.1. Histórico clínico	56
4.4.1.2. Achados anátomo-histopatológicos	57
4.4.1.3. Exames auxiliares	60
4.4.2. Doenças metabólicas	61
4.4.2.1. Histórico clínico	61
4.4.2.2. Achados anátomo-histopatológicos	61
4.4.2.3. Exames auxiliares	65
4.4.3. Alterações degenerativas	68
4.4.3.1. Histórico clínico	68
4.4.3.2. Achados anátomo-histopatológicos	68
4.4.4. Alterações indicativas de causa tóxica	69
4.4.4.1. Histórico clínico	69
4.4.4.2. Achados anátomo-histopatológicos	69
4.4.4.3. Exames auxiliares	70
4.4.5. Alterações circulatórias	72
4.4.5.1. Histórico clínico	72
4.4.5.2. Achados anátomo-histopatológicos	72
4.4.6. Doenças neoplásicas	73
4.4.6.1. Achados anátomo-histopatológicos	73
4.5. Ave de subsistência	74
4.5.1. Doenças metabólicas	75
4.5.1.1. Histórico clínico	75
4.5.1.2. Achados anátomo-histopatológicos	75

4.5.2. Alterações degenerativas	78
4.5.2.1. Histórico clínico	78
4.5.2.2. Achados anátomo-histopatológicos	78
4.5.3. Doenças bacterianas	79
4.5.3.1. Histórico clínico	79
4.5.3.2. Achados anátomo-histopatológicos	79
4.5.3.3. Exames auxiliares	79
4.5.4. Doenças neoplásicas	80
4.5.4.1. Histórico clínico	80
4.5.4.2. Achados anátomo-histopatológicos	80
4.5.5. Doenças causadas por protozoários	83
4.5.5.1. Histórico clínico	83
4.5.5.2. Achados anátomo-histopatológicos	83
4.5.5.3. Exames auxiliares	83
5. DISCUSSÃO	96
6. CONCLUSÕES.....	106
7. REFERÊNCIAS	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Agentes infecciosos que acometem o fígado de aves domésticas.	34
Tabela 2. Relação de amostras de aves domésticas diagnosticadas com alterações hepáticas. ..	37
Tabela 3. Relação do número de aves, exames auxiliares e o diagnóstico das alterações ou doenças hepáticas em aves de produção e de subsistência.....	44
Tabela 4. Diagnósticos de alterações hepáticas por etiologia em aves domésticas.....	46
Tabela 5. Diagnósticos morfológicos das hepatites infecciosas em aves domésticas sem confirmação por exames.....	86
Tabela 6. Diagnóstico morfológico e etiologia das hepatites infecciosas em aves domésticas ..	88
Tabela 7. Diagnóstico morfológico e etiologia das hepatopatias não infecciosas em aves domésticas	89
Tabela 8. Alterações histológicas extra-hepáticas associadas a hepatopatias não infecciosas e infecciosas em aves	90
Tabela 9. Doenças hepáticas concomitantes diagnosticadas em aves domésticas	94
Tabela 10. Doenças concomitantes às hepatopatias diagnosticadas em aves domésticas.....	95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Macroscopia e histologia de frango de corte de aspecto normal	19
Figura 2. Distribuição do número de diagnósticos de alterações hepáticas quanto ao tipo de ave	45

Figura 3. Distribuição dos diagnósticos de alterações hepáticas em aves de produção e de subsistência , quanto à etiologia infecciosa e não infecciosa.	45
Figura 4. Distribuição dos diagnósticos de alterações hepáticas em frangos de corte, quanto à etiologia infecciosa e não infecciosa.	47
Figura 5. Achados histopatológicos e histoquímicos em frango de corte de 27 dias com degeneração glicogênica.	50
Figura 6. Alterações macroscópicas em frangos de corte de 11 dias, naturalmente infectados por <i>Escherichia coli</i>	51
Figura 7. Achados anátomo-histopatológicos em matriz pesada, de 21 dias, com hepatite por corpúsculo de inclusão.	55
Figura 8. Distribuição dos diagnósticos de alterações hepáticas em galinhas de postura, quanto à etiologia infecciosa e não infecciosa.	56
Figura 9. Alterações macroscópicas em galinhas de postura de 77 semanas, naturalmente infectadas por <i>Salmonella Gallinarum</i>	58
Figura 10. Achados histopatológicos em galinhas de postura, de 8 e 77 semanas, naturalmente infectadas por <i>Salmonella Gallinarum</i>	59
Figura 11. Achados anátomo-histopatológicos em galinhas de postura, “pintainhas”, de 9 dias, naturalmente infectadas por <i>Escherichia coli</i>	59
Figura 12. Alterações macroscópicas em galinhas de postura de 46 semanas e 109 semanas, com lipidose e hepatite multifocal	60
Figura 13. Alterações macroscópicas em galinhas de postura de 16 e 12 semanas, com amiloidose AA sistêmica.....	62
Figura 14. Alterações histológicas em fígado, baço e músculo de galinha de postura, de 12 e 16 semanas com amiloidose AA sistêmica.	63
Figura 15. Achados anátomo-histopatológicos em galinha de postura, de 46 semanas, com síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico.....	64
Figura 16. Alterações histoquímicas em galinha de postura de 12 e 16 semanas, com amiloidose AA sistêmica	65
Figura 17. Microscopia eletrônica evidenciando deposição e agregação de fibrilas amiloides em fígado de galinha de postura, de 12 semanas, com amiloidose AA sistêmica	67
Figura 18. Alterações macroscópicas em galinhas de postura de 86 semanas com lipidose hepática	69
Figura 19. Achados anátomo-histopatológicos em galinhas de postura, de 17 semanas, com hepatopatia tóxica.....	71
Figura 20. Achados anátomo-histopatológicos em galinha de postura, adulta, com cardiomiopatia dilatada e fígado cardíaco.....	73
Figura 21. Achados histopatológicos em fígado de galinha de postura, adulta, com leucose.....	74
Figura 22. Distribuição dos diagnósticos de alterações hepáticas em aves de subsistência, quanto à etiologia infecciosa e não infecciosa.	75
Figura 23. Achados anátomo-histopatológicos em galinha de subsistência, com deposição visceral de urato	78
Figura 24. Achados anátomo-histopatológicos em galinha de subsistência, adulta, com adenoma hepatocelular.	82
Figura 25. Achados anátomo-histopatológicos e histoquímicos em ave de subsistência, de 4 semanas, com histomoníase	85

LISTA DE ABREVIATURAS

AA - Amiloide A
APEC – Avian Pathogenic *Escherichia coli*
AS – Ave de subsistência
CAV – Chicken anemia vírus
CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária
DCCV – Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias
DM - Doença de Marek
DMVP – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva
DNA- Ácido Desoxirribonucleico
E. coli - *Escherichia coli*
EV-UFMG - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais
FadV – *Fowl* adenovírus
FC - Frango de corte
GP – Galinha de postura
HCI – Hepatite por corpúsculo de inclusão
HE - Hematoxilina eosina
LL – Leucose linfóide
ME – Microscopia eletrônica
mm – Milímetros
ml- Mililitro
nm- Nanômetros
PAS – Ácido periódico de Schiff
PB – Pares de base
PBS- Phosphate buffered saline (Tampão fosfato-salino)
PCR - Reação em cadeia pela polimerase
RT-PCR – Reação da transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
RIS – Região identificadora de sorotipo
SG – Salmonella Gallinarum
S. gallolyticus - *Streptococcus gallolyticus*
S. zooepidemicus - *Streptococcus zooepidemicus*
SAA – Amiloide A sérica
TA – Tifo aviário
VC – Vermelho congo
VDM – Vírus da doença de Marek
VLA – Vírus da leucose aviária

RESUMO

O Brasil se destaca mundialmente na produção e criação de aves domésticas; contudo, vários aspectos sobre as principais doenças que acometem estas aves não são totalmente esclarecidos, incluindo as hepáticas. O presente estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência e a frequência das alterações hepáticas em aves domésticas incluindo frangos de corte (FC), galinhas de postura (GP) e aves de subsistência (AS). Foi realizado um estudo retrospectivo e prospectivo com os dados do serviço de diagnóstico do setor de patologia (últimos 15 anos), com um total de 300 casos com diagnósticos de alterações hepáticas. Aves industriais (FC e GP) foram as mais frequentes (88%) e as alterações não infecciosas as mais diagnosticadas (69%). Considerando a etiologia, a frequência das alterações hepáticas foi classificada da seguinte forma: alterações degenerativas (42%), bacterianas (28%), metabólicas (15%), tóxicas (8%), virais (3%), neoplásicas (2%), doenças por protozoários (1,5%) e por fim, distúrbios circulatórios (0,5%). Em relação ao tipo de criação, as alterações degenerativas, tóxicas, e as hepatites virais foram mais frequentes em FC. As alterações circulatórias, doenças metabólicas e hepatites bacterianas foram mais diagnosticadas em GP. Dentre estas, se destacaram a amiloidose, a salmonelose e a colibacilose. As neoplasias e as hepatites protozoárias ocorreram com maior frequência em AS. O exame macroscópico, associado a histopatologia possibilitaram o diagnóstico em 59% dos casos. Nos casos de hepatite bacteriana, a associação do exame histopatológico com o bacteriológico foi fundamental para o diagnóstico definitivo da etiologia. O fígado das aves pode ser acometido por uma variedade de causas sistêmicas, sendo o principal alvo de várias etiologias. Considerando as hepatites bacterianas e tóxicas em aves comerciais, o diagnóstico etiológico é de suma importância, considerando o risco para a saúde pública, apesar da óbvia importância devido às perdas de produtividade e condenação no processamento de alimentos.

Palavras-chaves: patologia aviária, fígado, frangos de corte, galinhas de postura, aves de subsistência, macroscopia, histopatologia, diagnóstico diferencial.

ABSTRACT

Brazil stands out worldwide in the production and breeding of poultry; however, several aspects regarding major diseases that affect poultry are not fully understood, including liver diseases. The present study aimed to assess the occurrence and the frequency of hepatic changes in poultry including broilers (B), layer hens (LH) and backyard poultry (BP). A retrospective and prospective study was conducted with data from the diagnostic service of the pathology sector (last 15 years), with a total of 300 cases with diagnoses of liver disorders. Industrial poultry (B and LH) were frequent affected (88%) and noninfectious changes were the most commonly diagnosed (69%). Considering etiology, the frequency of hepatic changes was classified as follows: degenerative changes (42%), bacterial (28%), metabolic (15%), toxic (8%), viral (3%), neoplastic (2%), as well as protozoal diseases (1,5%) and circulatory disorders (0,5%). Regarding the type of bird, degenerative, toxic changes and viral hepatitis were more frequent in broilers. Circulatory and metabolic disorders, as well as bacterial hepatitis, were more frequently diagnosed in layer hens. Among these, amyloidosis, salmonellosis and colibacillosis were paramount. Neoplastic and protozoal hepatitis occurred more frequently in backyard poultry. The macroscopic examination in association with histopathology enabled the diagnosis in 59% of the cases. In cases of bacterial hepatitis, the association of the histopathological examination with the bacteriological analyses was essential for the definitive diagnosis of the etiology. The liver of poultry can be affected by a variety of systemic causes, being the primary target of several etiologies. Considering bacterial and toxic hepatitis in commercial poultry, the etiological diagnosis is highly important, considering the risk for public health, despite the obvious importance due to the productivity losses and condemnation at food processing.

Key-words: Avian pathology, liver, broilers, laying hens, backyard poultry, macroscopy, histopathology, differential diagnosis.

1. INTRODUÇÃO

O setor avícola brasileiro destaca-se mundialmente, tanto pela produção e exportação de carne, quanto pela produção de ovos. O país ocupa desde 2011 a liderança na exportação de carne de frango e atualmente é o terceiro país que mais produz o produto, com cerca de 13,2 milhões de toneladas produzidas somente no ano de 2019, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China, respectivamente. Em 2019, Paraná e Santa Catarina foram os estados que mais exportaram carne de frango. Na região Sudeste o estado de São Paulo liderou, representando cerca de 4,84% das exportações, seguido de Minas Gerais com 2,27% (ABPA, 2020).

Em relação à produção de ovos, em 2019 o país produziu mais de 49 bilhões do produto, com cerca de 118.498,994 aves alojadas, sendo Rio Grande do Sul, Mato Grosso e Minas Gerais os estados que mais exportaram ovos, respectivamente (ABPA, 2020). Dados referentes ao terceiro trimestre de 2020 mostram que o setor atingiu o maior patamar já registrado no país evidenciando o crescimento e sua importância para a economia. O estado que mais produziu ovos foi São Paulo, seguido por Paraná e Minas Gerais (IBGE, 2020).

Esta eficiência na produtividade se deve a fatores como investimento em tecnologias e controle sanitário do plantel (Oliveira et al., 2012), associado a pesquisas, das quais foi possível a obtenção de aves com potencial genético elevado (Bernardi, 2011). Por outro lado, há situações em que a criação de aves para subsistência, amplamente explorada por pequenos produtores em todo o Brasil, apresenta baixo *status* sanitário, o que reflete na ocorrência de numerosas doenças. Além disto, devido à proximidade com criações comerciais, estas aves representam risco para a cadeia avícola, principalmente para regiões com alta produtividade, tais como o sul e sudeste (Almeida et al., 2020), pois em muitos casos, estas aves atuam como reservatório de doenças importantes que causam perda econômica (Derksen et al., 2018).

Apesar do rígido controle sanitário implantado no país, sabe-se que nem todos os plantéis estão livres das numerosas doenças que podem acometer estas aves nas diversas etapas de seu desenvolvimento, podendo comprometer o *status* sanitário de determinada região, e até do país, interferindo em sua economia, visto a importância da avicultura nacional. No entanto, são escassas as pesquisas com levantamentos que abordam quais as doenças são frequentemente diagnosticadas em aves (*Gallus gallus domesticus*) domésticas no Brasil, especificamente no estado de Minas Gerais. Dentre tais doenças, destacam-se as que acometem o sistema hepático-biliar.

O fígado pode ser acometido por múltiplas condições ou etiologias, tais como: distúrbios circulatórios, neoplásicos e toxicoses, além de processos infecciosos, podendo envolver agentes bacterianos, virais ou parasitários (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). Desta forma, a hepatite pode ter diferentes etiologias. Dentre as causas bacterianas, destacam-se a *Salmonella enterica* (Rezende et al., 2008), *Escherichia coli* (Casagrande et al., 2017; Barcelos et al., 2006), *Staphylococcus* spp.

(Casagrande et al., 2017; Barcelos et al., 2006; Meyer et al., 2021), *Streptococcus* spp. (Hess et al., 2020), *Clostridium perfringens* (Barcelos et al., 2006), *Pasteurella multocida* (Saif, 2013), *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Bricker e Saif, 2013), *Trueperella pyogenes* (Silva et al., 2020) e *Listeria monocytogenes* (Crespo et al., 2013). Em relação aos agentes virais, podem ser incluídos o adenovírus das aves (Sun et al., 2019a), vírus da hepatite E aviária (Sun et al., 2019b), vírus da influenza aviária (Swayne et al., 2013) e vírus da doença de Newcastle (Miller e Koch, 2013). Se tratando de agentes parasitários, *Histomonas meleagridis* é frequentemente relatado (Araújo et al., 2015).

Em frangos de corte com condenação total da carcaça por colibacilose, o fígado foi o principal órgão acometido (Casagrande et al., 2017). Nestes casos, o diagnóstico é baseado na macroscopia e histopatologia com cultura e isolamento bacteriano (Casagrande et al., 2017; Barcelos et al., 2006). Para o diagnóstico de agentes virais, além da histopatologia pode-se utilizar testes auxiliares como PCR ou RT-PCR (reação da transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase) (Sun et al., 2019a). Nos casos de histomoníase, a avaliação macroscópica é importante, contudo a análise histopatológica para identificação dos trofozoítos é fundamental (Araújo et al., 2015).

O setor de patologia da escola de veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFGM) há alguns anos, recebe amostras de aves de produção e de subsistência de diversas regiões de Minas Gerais e com menor frequência de alguns outros estados, como São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, além do Distrito Federal.

Dessa forma, para o presente estudo, foram revisados todos os casos de alterações hepáticas em aves domésticas registrados no setor nos últimos quinze anos, sendo estabelecidos os seguintes objetivos:

- Determinar a ocorrência e a frequência dos tipos de alterações e/ou doenças hepáticas nesta espécie.
- Identificar e descrever os principais achados macroscópicos e microscópicos encontrados em cada doença.
- Utilizar diferentes técnicas laboratoriais quando houver necessidade e possibilidade de confirmação da etiologia para o diagnóstico definitivo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1.FÍGADO

2.1.1. ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS

O fígado das aves domésticas é um órgão de tamanho expressivo, bilobulado, dividido em lobo direito e lobo esquerdo (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016), localizado na região anterior da cavidade celomática (Figura 1A) (Lucas e Denington, 1956). Há variações em seu formato entre diferentes espécies aviárias (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016), bem como dentro de uma única espécie (Lucas e Denington, 1956). Nas aves domésticas, o lobo direito é maior e possui a vesícula biliar. O lobo esquerdo é subdividido em partes dorsal e ventral (Denbow, 2015).

Na histologia hepática, assim como observado em outras espécies, o fígado aviário é caracterizado principalmente por cordões de hepatócitos, que são células aparentemente triangulares, dispostas em torno de canalículos biliares (formados pela membrana citoplasmática dos hepatócitos), entre o espaço porta e a vênula centrolobular (Figura 1B). No espaço porta tem-se a arteríola porta, vênula porta e o ducto biliar. Contudo, algumas particularidades devem ser levadas em consideração ao avaliar o tecido hepático de aves, evitando assim possíveis erros de diagnóstico. Nesta espécie, frequentemente são encontrados pequenos agregados multifocais de tecido linfóide em paredes de vasos sanguíneos (especialmente nos vasos do espaço porta) (Figura 1C), além de áreas focais de hematopoese extramedular (Figura 1D). Devido a falta de septos interlobulares, a organização lobular clássica não é claramente visualizada (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

Outra particularidade das aves envolvendo o sistema hepático-biliar, é que ao contrário da maioria dos mamíferos, onde o principal pigmento biliar é a bilirrubina, nas aves o pigmento de maior importância é a biliverdina (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016), o que justifica a pouca frequência de quadros de icterícia em decorrência de hiperbilirrubinemia na espécie aviária (Lumeij e Westerhof, 1987).

Assim como ocorre em outros animais, nas aves, o fígado desempenha um papel homeostático fundamental (produção dos fatores de coagulação) e em diversos processos como síntese e metabolismo de importantes substâncias, tais como lipídeos, carboidratos e proteínas, além de participar efetivamente de processos de excreção e detoxificação (Denbow, 2015). Em decorrência a sua importância e a estas inúmeras funções, as doenças hepáticas proporcionam danos não somente ao fígado, mas também a outros tecidos (Cullen e Stalker, 2016).

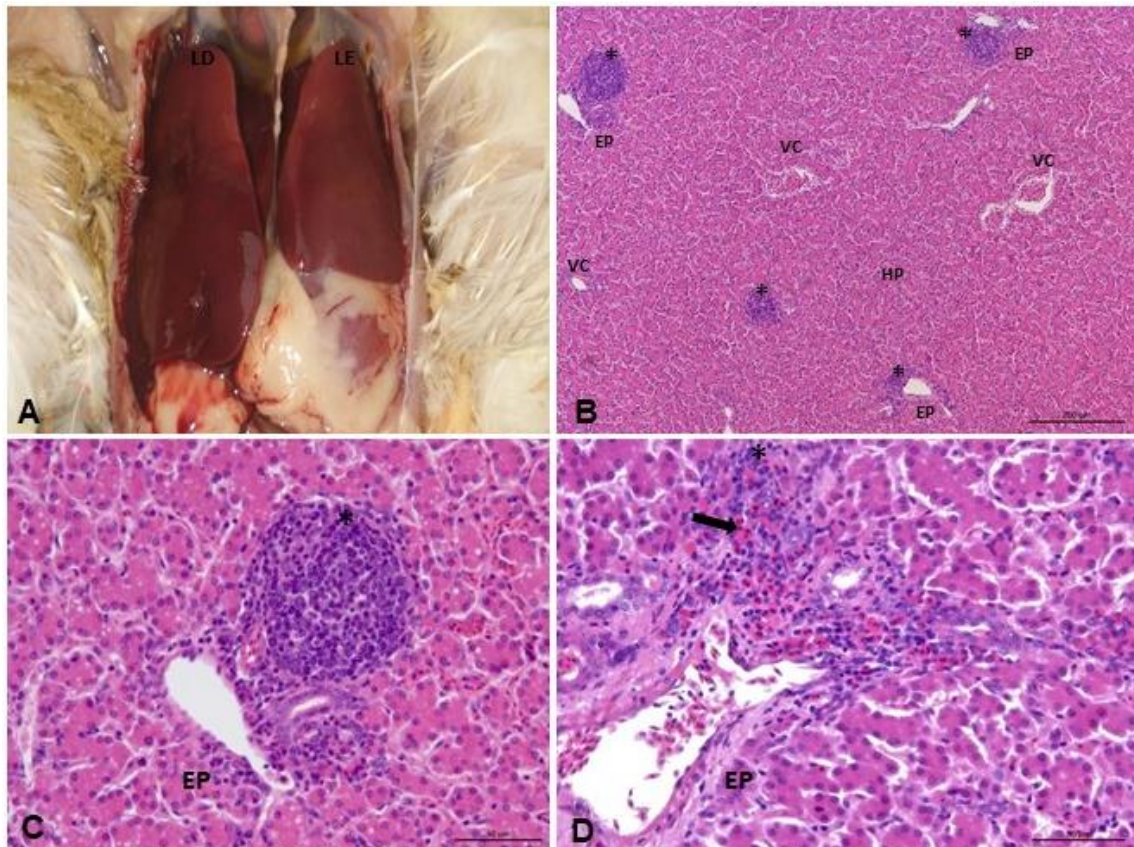


Figura 1. Macroscopia (A) e histologia (B, C e D) de fígado normal. (A) Frango de corte de 30 dias com fígado marrom avermelhado, com superfície capsular lisa e brilhante, dividido em lobo direito (LD) e lobo esquerdo (LE), ocupando grande parte da cavidade celomática anterior. (B) Fígado de frango de corte de 40 dias, caracterizado por cordões de hepatócitos (HP), distribuídos entre espaço porta (EP) e vênula centrolobular (VC). Observam-se folículos linfoides (*) predominantemente em parede de vasos do espaço porta (EP). Barra: 200 μ m. (C) Fígado de frango de corte de 40 dias, em parede de vaso do espaço porta (EP) há área circunscrita bem delimitada, encapsulada, com acúmulo de linfócitos e plasmócitos, caracterizando um folículo linfoide (*). Barra: 50 μ m. (D) Fígado de frango de corte de 40 dias, em parede de vaso do espaço porta (EP) há acúmulo de linfócitos e plasmócitos, caracterizando tecido linfoide associado ao espaço porta (*), juntamente com células com grânulos citoplasmáticos hipereosinofílicos (mielócitos granulocíticos), caracterizando hematopoese extramedular (seta). Barra: 50 μ m. Hematoxilina e eosina (HE).

2.2. DOENÇAS HEPÁTICAS

2.2.1. Doenças degenerativas

2.2.1.1. Degeneração hidrópica

A degeneração hidrópica ou vacuolar é uma lesão aguda, caracterizada por tumefação e formação de vacúolos de contornos indistintos no citoplasma do hepatócito. Há inversão nos íons de água e sódio e expansão da membrana das mitocôndrias, dos lisossomos e do retículo endoplasmático. É associada a causas tóxicas, processos metabólicos, quadros de hipóxia e colestase. Microscopicamente, há distensão do citoplasma dos hepatócitos, os quais possuem numerosos vacúolos com finas separações em forma de rede (Cullen e Stalker, 2016).

2.2.1.2. Degeneração glicogênica

A degeneração glicogênica é uma lesão caracterizada por acúmulo intracelular de glicogênio. Fígados acometidos podem estar aumentados de tamanho e marrom-claros. Na histopatologia, há distensão do citoplasma dos hepatócitos, havendo no interior do citoplasma múltiplos vacúolos de margens mal delimitadas com a manutenção central do núcleo (Cullen e Stalker, 2016). Este achado tem sido descrito ocasionalmente em fígados de frangos condenados ao abate (Barcelos et al., 2006). Dependendo do grau de comprometimento, fígados acometidos podem manter funções normais (Cullen e Stalker, 2016).

2.2.1.3. Degeneração gordurosa

Degeneração gordurosa, também denominada lipidose hepática ou esteatose, são termos utilizados para descrever acúmulo excessivo de triglicerídeos e outros metabólitos lipídicos no citoplasma dos hepatócitos (Cullen e Stalker, 2016). Em aves com poucos dias de vida, normalmente observa-se grande quantidade de lipídeo no fígado, advinda da gema (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). Além disso, o fígado é responsável pela maior parte da lipogênese. A gordura da dieta é transportada diretamente para o fígado, desta forma, concentrações mais altas de lipídios são esperadas nesta espécie (Cherian et al., 2002; Leeson, 2007).

O acúmulo excessivo de lipídios nos hepatócitos geralmente é associado a alto teor de gordura na dieta (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016), havendo baixa concentração de proteína e alta de energia, além de dietas com desequilíbrio ou deficiência de aminoácidos (Leeson, 2007). A lipidose também pode ser decorrente de lesão hepatocelular (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016), quadros de anóxia ou hipóxia e emaciação intensa (Cullen e Brown, 2013). Galinhas poedeiras

em períodos de alta produção consomem excessivamente dietas ricas em energia (Leeson, 2007), podendo acarretar em lipidose hepática. Em fígados de frangos encaminhados ao abate, ocasionalmente observa-se degeneração gordurosa (Barcelos et al., 2006). Dependendo do grau de comprometimento hepático, a degeneração pode ser reversível (Cullen e Stalker, 2016).

Macroscopicamente o fígado está aumentado de volume, vermelho-claro a amarelado e friável (Cullen e Stalker, 2016). Na histopatologia, os hepatócitos estão aumentados de tamanho, e no citoplasma há vacúolos intracitoplasmáticos bem delimitados, de tamanhos variáveis, que deslocam o núcleo para a periferia. Dependendo da severidade, pode haver necrose de hepatócitos, e em casos crônicos, graus variáveis de fibrose (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

2.2.2. Doenças metabólicas

2.2.2.1. Hemossiderose

Hemossiderose é caracterizada pelo acúmulo de grânulos amarelo-dourados ou glóbulos marrom-dourados no citoplasma de hepatócitos e células de *Kupffer*. Ocorre quando há uma doença sistêmica, com aumento no nível de ferro, e em casos onde há acentuada degradação de eritrócitos, como ocorre em quadros de anemia hemolítica. Pode ser denominada de hemossiderose hepática quando há acúmulo relativamente benigno de ferro em hepatócitos e células de Kupffer. Os termos hemocromatose hepática e doença hepática de armazenamento de ferro são usados para se referir ao acúmulo excessivo de ferro resultante de lesão celular, disfunção orgânica e doenças clínicas em aves. Em quantidades excessivas, o ferro é hepatotóxico, nestes casos pode haver no fígado áreas de necrose associadas com fibrose (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

Em algumas espécies de aves, especialmente aquáticas, observam-se quantidades relativamente grandes de ferro nos hepatócitos. Contudo, estes achados não tem associação com doença. Aves intoxicadas com chumbo, frequentemente apresentam excesso de pigmento de hemossiderina nos hepatócitos e células de *Kupffer* (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). O uso em excesso de aminoácidos, como metionina em aves de produção causa toxicidade e nestes casos, quadro indicativo de hemossiderose esplênica pode ser observado (Dilger et al., 2007). Em estudo recente, avaliando causas de mortalidade e morbidade em psitacídeos, a hemossiderose foi observada em 24 aves, sendo o fígado o órgão mais frequentemente acometido (Gibson et al., 2019).

2.2.2.2. Amiloidose

A amiloidose é caracterizada pela deposição local ou sistêmica de fibrilas glicoproteicas extracelulares em diferentes tecidos (Merlini e Bellotti, 2003). Nos animais, de acordo com a proteína precursora envolvida, a doença pode ser classificada em até nove tipos (Sipe et al., 2016). A mais frequente é a amiloidose A (AA), única descrita em aves (Guo et al., 1996). Seu precursor é a proteína amiloide A sérica (SAA), reagente de fase aguda sintetizado pelo fígado em decorrência a sinais ou mediadores inflamatórios (Cray e Altman, 2009). O aumento significativo das concentrações de SAA induz a conversão de SAA em fibrilas (Westermarck e Westermarck, 2010; Murakami et al., 2014).

Na espécie aviária, a doença é mais frequente em patos de Pequim (Tanaka et al., 2008); no entanto, pode acometer outras aves, como por exemplo gaivotas (Jansson et al., 2018), codornas (Nakayama et al., 2017) e galinhas (Murakami et al., 2013b; Carnaccini et al., 2016). Em frangos de corte a doença não tem sido diagnosticada, uma vez que são abatidos precocemente (Murakami et al., 2014). Recentemente, surtos de amiloidose em criações de galinhas poedeiras foram relatados em países como Estados Unidos e Japão, cursando com aumento na mortalidade, a qual atingiu taxas de 1,38% (Carnaccini et al., 2016) a 1,6% (Murakami et al., 2013b), respectivamente.

Em aves, a amiloidose AA está relacionada à hiperestimulação do sistema imunológico, podendo assim ser secundária a doenças crônicas, tais como micobacterioses, pododermatite ulcerativa, dentre outras (Cowan, 1968; Dias e Montau, 1994; Landman e Gielkens, 1998). Além disso, estímulos imunológicos decorrentes da vacinação foram fortemente relacionados à doença na espécie (Murakami et al., 2013a; Ibi et al., 2015; Carnaccini et al., 2016; Habibi et al., 2017).

Em aves comerciais, a deposição de amiloide é frequentemente descrita em fígado, baço, músculo peitoral (Murakami et al., 2013b; Ibi et al., 2015; Carnaccini et al., 2016) e intestino (Murakami et al., 2013; Ibi et al., 2015; Carnaccini et al., 2016; Nakayama et al., 2017). Macroscopicamente, os fígados acometidos estão aumentados de volume e marrom-amarelados, associado a áreas de hemorragia (Murakami et al., 2013b; Habibi et al., 2017). Na histopatologia, a doença é caracterizada por deposição de material eosinofílico e homogêneo na parede dos sinusoides, levando a compressão, atrofia e perda de hepatócitos adjacentes (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). Em casos mais avançados, há ainda vacuolização de hepatócitos, necrose de coagulação, inflamação e hemorragia multifocal (Murakami et al., 2013a; Habibi et al., 2017).

Acredita-se que a morte de galinhas por amiloidose esteja relacionada a distúrbios hepáticos (Ibi et al., 2015), uma vez que o fígado é bastante acometido nestes casos (Murakami et al., 2013b). Contudo, em aves, o mecanismo da amiloidose, bem como as consequências para os tecidos acometidos ainda não foram bem elucidados. Em um estudo realizado em aves dois anos após o surto, verificou-se a redução de amiloide em tecidos como fígado e músculo (Ibi et al., 2015).

O diagnóstico definitivo pode ser estabelecido pela utilização de coloração especial pelo vermelho congo (VC), diferenciando amiloide de outros materiais eosinofílicos, como a fibrina. Nestes casos, a confirmação é realizada pela visualização da coloração verde maçã birrefringente do tecido sob luz polarizada (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

2.2.2.3. Hepatopatia úrica

A deposição de urato e ácido úrico é uma doença metabólica que acomete o fígado e outros tecidos, como rins, serosas do coração, sacos aéreos (gota úrica visceral) e articulações (gota úrica articular) (Crespo e Shivaprasad, 2013). São descritos casos em aves com envolvimento de múltiplos órgãos (Mudasir et al., 2017), como fígado, coração, rins, baço, pulmões e sacos aéreos (Mir et al., 2005), além das articulações (Crespo e Shivaprasad, 2013).

Surtos da doença em galinhas poedeiras tem sido frequentemente relatados (Feizi et al., 2012; Chirayath 2014; Mudasir et al., 2017). Em um caso, observou-se mortalidade de 18,76% em um período de seis meses (Mir et al., 2005). A doença ocorre quando há falhas na excreção urinária, havendo acúmulo de metabólitos no organismo (Crespo e Shivaprasad, 2013).

A avaliação macroscópica associada às alterações histológicas é essencial para que se estabeleça um diagnóstico preciso (Feizi et al., 2012; Chirayath 2014; Mudasir et al., 2017). Macroscopicamente, sobre a cápsula hepática, observa-se deposição de material esbranquiado, com aspecto de pó de giz (Mudasir et al., 2017). Na microscopia, deposição de cristais de urato, caracterizados por material basófilo e radiado, são observados na superfície capsular, além de focos de necrose de hepatócitos. Células gigantes e macrófagos frequentemente circundam estas áreas, denominadas de tofos (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

2.2.2.4. Síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico

A síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico é um distúrbio metabólico, que acomete galinhas poedeiras. A doença é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura no fígado e na cavidade abdominal, além de ruptura e hemorragia hepática (Crespo e Shivaprasad, 2003). A causa para sua ocorrência ainda não foi esclarecida, sendo relacionada a múltiplos fatores, tais como nutricionais, genéticos e hormonais, além de ambientais (Squires e Leeson, 1988; Hansen e Walzem, 1993). Em um estudo realizado por Trott et al. (2014), 97% das aves incluídas no estudo possuíam deposição de gordura ou eram obesas e 69% estavam em período de postura.

Além de poedeiras comerciais (Shini et al., 2019), a doença também acomete galinhas de subsistência, como constatado em um estudo realizado em galinhas de subsistência na Califórnia (Estados Unidos), onde a doença foi a principal causa de mortalidade dentre as causas não infecciosas nestas aves (Mete et al., 2013).

Macroscopicamente, os fígados estão aumentados de volume, friáveis, variando de amarelados, alaranjados a amarronzados. Hematomas e hemorragias petequiais subcapsulares podem estar presentes. Ao corte, hemorragias e hematomas frequentemente são descritos, além de áreas de ruptura hepática, associadas a coágulos sanguíneos. Na histopatologia, o grau de lipidose é variável, podendo ser discreto a acentuado. Hematomas subcapsulares, intraparenquimatosos, hemorragias sinusoidais e coágulos sanguíneos aderidos a cápsula são achados característicos da doença (Trott et al., 2014).

2.2.3. Doenças de causa tóxica

As micotoxicoses tem grande importância na avicultura, sendo frequente casos de exposição a micotoxinas, as quais podem ser encontradas em grãos, cereais e ração para aves. Aves acometidas podem manifestar quadro clínico agudo ou crônico, dependendo da quantidade de toxinas ingeridas, bem como do tempo que estas foram expostas. Dentre as micotoxinas, destacam-se os alcaloides da cravagem, aflatoxinas, tricotecenos, vomitoxina, zearalenona, ocratoxinas, oosporina, citrinina e fumonisina (Hoerr, 2020).

2.2.3.1. Hepatopatias agudas

Lesões hepáticas, como hemorragia e necrose podem ser observadas em quadros de intoxicações por citrinina e tricotecenos. Neste último, há ainda proliferação de ductos. Necrose hepática também é descrita em intoxicação por ocratoxinas (Hoerr, 2020) e fumonisina B1 (Ledoux et al., 1992; Shlosberg, 2008). Além da necrose, intoxicações por fumonisina B1 induz hiperplasia hepatocelular e biliar (Ledoux et al., 1992; Shlosberg, 2008). Além do fígado, as micotoxinas podem acometer o rim, o tegumento e o sistema músculo-esquelético, bem como interferir na imunidade, hematopoese, reprodução e digestão das aves. Consequente a isso, há redução do crescimento e da fertilidade, havendo menor produção de ovos e comprometimento da qualidade dos produtos alimentares avícolas, os quais tornam-se um risco para a saúde humana (Hoerr, 2020).

O diagnóstico confirmatório é baseado na identificação e quantificação de micotoxinas, por meio de testes como cromatografia, espectrometria de massa, fluorimetria e ensaios de imunoabsorção enzimática (Hoerr, 2020).

2.2.3.2. Hepatopatia crônica

Em aves, inúmeras toxinas podem causar lesões no fígado resultando em fibrose, como micotoxinas (aflatoxinas), metais pesados (chumbo, arsênio) e plantas do gênero *Crotalaria* sp., Colza (Pereira et al., 2011; Abdul-Aziz e Fletcher, 2016; Savaris et al., 2019) e *Senecio* sp. (Biffi

et al., 2018). Se comparados a outras espécies aviárias, os frangos parecem ser mais resistentes a ação das aflatoxinas e de seus metabólitos. Em casos crônicos, há alteração na cor e no tamanho do fígado e dos rins, além disso, exposição crônica a aflatoxinas pode induzir neoplasias hepáticas (Hoerr, 2020). Fígados de galinhas com aflatoxicose apresentam além de fibrose, vacuolização lipídica e necrose de hepatócitos, cariomegalia, hiperplasia dos ductos biliares, e ocasionalmente, infiltrado inflamatório (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). Fibrose hepática também é um achado frequente em toxicose por alcalóide pirrolizidínicos (Biffi et al., 2018). Nestes casos, os fígados podem estar diminuídos de tamanho, firmes, com superfície irregular e amarelados, havendo múltiplos nódulos amarelados distribuídos no parênquima, além de deposição de fibrina em cápsula. Em alguns casos, há congestão, hemorragias extensas e hematomas subcapsulares. Na histopatologia, além de proliferação de tecido conjuntivo fibroso, há degeneração gordurosa, necrose hepática, hemorragia, megalocitose e proliferação de ductos (Pereira et al., 2011).

2.2.4. Doenças inflamatórias

2.2.4.1. Bacterianas

2.2.4.1.1. Salmonelose

As salmoneloses são doenças causadas por bactérias do gênero *Salmonella*, o qual abrange um conjunto de bactérias gram negativas, em forma de bastonetes, não esporuladas, anaeróbias facultativas, produtores de sulfeto de hidrogênio (H₂S) e, em sua maioria, não fermentadoras de lactose. O gênero *Salmonella* faz parte da família Enterobacteriaceae, ao lado de micro-organismos dos gêneros *Proteus*, *Citrobacter*, *Yersinia*, *Shigella*, *Escherichia*, entre outros (Garrity et al., 2004).

O gênero é composto pelas espécies *enterica* e *bongori*. A espécie-*enterica* é subdividida em seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*) que contém vários sorotipos ou sorovares. Descreve-se um sorotipo da seguinte forma: *Salmonella enterica* subesp. *enterica* sorotipo Enteritidis, que pode ser simplificada como *Salmonella* Enteritidis (Grimont e Weill, 2007). O agente do tifo aviário e o da pulorose são considerados biovars do sorotipo Gallinarum, sendo descritos da seguinte maneira: *Salmonella enterica* subesp. *enterica* sorotipo Gallinarum biovar Gallinarum (*S. Gallinarum*) e *Salmonella enterica* subesp. *enterica* sorotipo Gallinarum biovar Pullorum (*S. Pullorum*), respectivamente (Barrow e Freitas Neto, 2011).

Atualmente estão catalogados 2.659 sorotipos de *Salmonella* (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014). Cerca de 100 deles são mais comuns em casos de infecção de seres humanos e animais. A maioria dos sorotipos infecta as aves, podendo causar três doenças distintas. A pulorose, cujo

agente é a *Salmonella Pullorum*; o tifo aviário, causado por *S. Gallinarum* e o paratifo aviário; causado por outros sorotipos. Os agentes do paratifo aviário não possuem hospedeiro-específico e estão associados a casos de infecção alimentar em seres humanos, frequentemente relacionados ao consumo de produtos alimentícios de origem avícola (Gast 2013; Shivaprasad e Barrow, 2013).

O tifo aviário é caracterizado por uma infecção septicêmica grave, com morbidade e mortalidade elevadas em aves de qualquer idade, com pouco ou nenhum comprometimento intestinal, sendo transmitido horizontalmente (Celis-Estupiñan et al., 2017; Berchieri et al., 2001). Enquanto *S. Pullorum*, por sua vez, provoca septicemia, quadro de diarreia branca, alta mortalidade e morbidade em aves infectadas nos primeiros dias de vida. Pode ser transmitida pelas vias vertical e horizontal, podendo ainda desencadear infecção persistente em algumas aves que se recuperam (Shivaprasad e Barrow, 2013). O paratifo aviário, por sua vez, varia de infecção intestinal com ausência de sinais clínicos a enterite que, a depender do isolado, pode causar infecção sistêmica e até morte, principalmente quando acomete aves jovens. Alguns desses sorotipos realizam intensa colonização intestinal e são excretados em quantidades elevadas, favorecendo a transmissão e a contaminação de ovos e carcaças de aves (Gast et al., 2019; Gast e Porter Junior, 2020).

Outras espécies de aves como perus, faisões, codornas, pardais, avestruz e pavão também são suscetíveis às infecções por *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* (Shivaprasad, 2000; Shivaprasad e Barrow, 2013). Em galinhas, a resistência à infecção sistêmica por *Salmonella* parece ser determinada por fatores genéticos expressos em macrófagos, variando de acordo com a linhagem de ave (Wigley et al., 2002). As aves leves são consideradas resistentes, enquanto que as semipesadas e pesadas são consideradas susceptíveis às salmoneloses sistêmicas (Oliveira et al., 2005; Barrow e Freitas Neto, 2011; Celis-Estupiñan et al., 2017).

Frequentemente são descritas alterações no fígado, como hepatomegalia (Shivaprasad, 2000; Freitas Neto et al., 2007; Garcia et al., 2013; Leão et al., 2018), congestão (Shivaprasad, 2000), coloração variando de vermelho-acobreado (Leão et al., 2018) a verde-amarelado (Freitas Neto et al., 2007), além de áreas milimétricas branco- amareladas no parênquima (Shivaprasad, 2000; Garcia et al., 2013; Leão et al., 2018). Outros tecidos também podem ser acometidos; no baço pode haver esplenomegalia (Shivaprasad, 2000; Freitas Neto et al., 2007; Leão et al., 2018), além de áreas brancas multifocais (Shivaprasad, 2000; Leão et al., 2018) e hiperemia (Shivaprasad, 2000; Freitas Neto et al., 2007). No coração, podem ser observados nódulos brancos no epicárdio e no miocárdio (Shivaprasad, 2000).

Na histopatologia hepática, a necrose de coagulação é um achado importante (Shivaprasad, 2000; Freitas Neto et al., 2007; Garcia et al., 2013; Leão et al., 2018). Há ainda, infiltrado heterofílico e histiocitário, com deposição de fibrina nos sinusoides (microtrombos), caracterizando um quadro de hepatite fibrinonecrótica heterofílica e histiocitária. Outros achados incluem necrose fibrinoide da parede vascular com vasculite (Leão et al., 2018).

O diagnóstico é baseado nos achados macroscópicos associados ao exame histopatológico, juntamente com o exame bacteriológico, seguido de tipificação da bactéria (Shivaprasad, 2000; Garcia et al., 2013).

2.2.4.1.2. Colibacilose

A colibacilose aviária é uma doença infecciosa localizada ou sistêmica, causada pela bactéria *Escherichia coli* patogênica aviária (Avian Pathogenic *Escherichia coli*, APEC). A *E. coli* é um bacilo gram-negativo, não álcool-ácido resistente e não formador de esporos, de tamanhos e formas variáveis, geralmente medindo de 2 a 3 µm de comprimento por 0,6 µm de largura (Nolan et al., 2020).

A doença é uma das mais importantes para a avicultura, sendo considerada uma das principais causas de mortalidade. Em aves, é associada a diversas doenças, tais como peri-hepatite, aerossaculite e pericardite, além de onfalite, síndrome da cabeça inchada, polisserosite, coligranuloma, enterite, celulite, salpingite (Nolan et al., 2020) e osteomielite (Braga et al., 2016; Nolan et al., 2020).

Em lotes de galinhas de postura, a bactéria foi uma das principais causas de mortalidade durante a primeira semana (Olsen et al., 2012). Pintainhos que sobrevivem mais de quatro dias com infecção do saco vitelino por *E. coli* podem ter além de peritonite, quadros de peri-hepatite e pericardite, indicando propagação sistêmica (Nolan et al., 2020). Nestes casos, a infecção do saco vitelino pode ocorrer *in ovo*, seja através de quadros de salpingite em galinhas reprodutoras ou até mesmo do ambiente do incubatório (Vandekerchove et al., 2004; Mokady et al., 2005).

Em um estudo realizado em galinhas, a doença foi prevalente em todas as faixas etárias, especialmente em poedeiras adultas (Rahman et al., 2004). Em frangos de corte, a doença é uma importante causa de condenação da carcaça. Em um estudo realizado no Rio Grande do Sul em frangos com condenação total da carcaça por colibacilose, o fígado foi o principal órgão acometido, onde a maioria das aves apresentaram lesões exclusivamente hepáticas (Casagrande et al., 2017).

As lesões macroscópicas e o período de sobrevivência de aves acometidas dependem da patogenicidade da estirpe envolvida. Aves acometidas por estirpes menos patogênicas sobrevivem por mais tempo e desenvolvem lesões mais extensas (Nolan et al., 2020). Macroscopicamente, os fígados acometidos podem estar aumentados de tamanho, firmes, com pontos esbranquiçados, de aspecto estrelado e esverdeado, multifocais a coalescentes e medindo de 1 a 5 mm (Casagrande et al., 2017). Além disso, em alguns casos, há deposição de membrana de fibrina espessa na superfície capsular, que se destaca facilmente. Em aves que sobreviveram à fase septicêmica, observam-se ainda múltiplos focos esbranquiçados (Nolan et al., 2020). Na

histopatologia, a lesão hepática é caracterizada principalmente por hepatite necrosante multifocal aleatória (Casagrande et al., 2017).

O diagnóstico é baseado na macroscopia e histopatologia com cultura e isolamento bacteriano (Casagrande et al., 2017; Barcelos et al., 2006).

2.2.4.1.3. Estreptococose

A estreptococose é definida como qualquer doença causada por estreptococos. O gênero *Streptococcus* é classificado como bactéria aeróbica, coco gram-positivo, comensal no intestino, podendo ser patogênico para uma variedade de espécies, incluindo as aves. Em aves domésticas, as espécies de estreptococos mais descritos causando doença são *S. gallolyticus* e *S. zooepidemicus*. O *Streptococcus gallolyticus* possui duas subespécies *S. Gallolyticus* subsp. *gallolyticus* (anteriormente *S. bovis* I) e *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* (anteriormente *S. Bovis* II). Casos de estreptococose por *S. zooepidemicus* são relacionados a aves que possuem contato com cavalos doentes (Borst, 2020).

A estreptococose acomete diferentes espécies aviárias, como frangos, galinhas, perus, gansos, patos, além de pombos e psitacídeos (Crispo et al., 2018); contudo, apesar de sua ampla distribuição, não é relatada com frequência. Em aves comerciais, pode causar perdas econômicas, especialmente em perus e frangos (Borst, 2020).

Surtos relatados em frangos de corte (Chadfield et al., 2007) e em poedeiras caipiras (Bisgaard et al., 2012) constaram de aumento da mortalidade e queda na produção de ovos acompanhada de 80% de mortalidade do lote, respectivamente. Nestes casos, foram observadas lesões hepáticas como necrose (Chadfield et al., 2007; Bisgaard et al., 2012) e infarto (Bisgaard et al., 2012). Esplenite e hepatite são achados frequentes em casos de estreptococose, desta forma, o baço e o fígado representam importantes tecidos a serem coletados para isolamento (Crispo et al., 2018).

Macroscopicamente, os fígados acometidos estão aumentados de volume, podendo haver na superfície serosa exsudato fibrinoso, caracterizando peri-hepatite. Ocasionalmente, podem ser observados focos amarronzados, além de áreas firmes e vermelho-pálidas medindo cerca de 3-10 mm, caracterizando um quadro de infarto. Na histopatologia hepática há hiperemia, áreas multifocais de necrose associadas à fibrina, heterófilos e cocos intracelulares e extracelulares. Frequentemente, as bactérias também são observadas na superfície serosa, associadas à fibrina e heterófilos. Em casos de infarto, trombose das vênulas porta ou centrolobular pode ser observado próximo às áreas de necrose (Borst, 2020).

Os estreptococos são facilmente isolados do fígado, desta forma o diagnóstico definitivo pode ser estabelecido mediante isolamento bacteriano, identificação e testes de susceptibilidade, além de PCR e sequenciamento (Borst, 2020).

2.2.4.1.4. Pasteurelose

A bactéria *Pasteurella multocida* é o agente relacionado a cólera aviária, uma doença infecciosa, que acomete aves domésticas e selvagens (Blackall e Hofacre, 2020). A bactéria é um bastonete gram-negativo, não móvel e não formador de esporos. Frequentemente a doença é relacionada a *Pasteurella multocida* subespécie *multocida*; contudo, outras subespécies também podem causar doença em aves (Christensen et al., 2008).

A doença tem ampla distribuição e apresenta uma variedade de manifestações clínicas, variando de doença sistêmica aguda a infecções crônicas localizadas (Christensen et al., 2008). Em casos agudos cursa com alta mortalidade (Christensen et al., 2008), podendo chegar a 20% ou mais (Blackall e Hofacre, 2020). Nestes casos, macroscopicamente, a doença é caracterizada por distúrbios vasculares (Christensen et al., 2008; Blackall e Hofacre, 2020), como hiperemia difusa associada a hepatomegalia e esplenomegalia. Múltiplas áreas de necrose hepática podem ser observadas nos casos subagudos (Christensen et al., 2008). Na histopatologia hepática há necrose de coagulação, associada a inflamação heterofílica (Blackall e Hofacre, 2020).

O diagnóstico é baseado na avaliação clínica, associada aos achados anátomo-histopatológicos e isolamento bacteriano (Blackall e Hofacre, 2020), uma vez que a bactéria pode ser facilmente isolada de órgãos de aves que morrem na fase aguda ou subaguda da doença (Christensen et al., 2008). Hibridização *in situ* e técnicas moleculares, como a PCR também podem ser utilizadas (Christensen et al., 2008).

2.2.4.2. Virais

2.2.4.2.1. Hepatite por corpúsculo de inclusão

A hepatite por corpúsculo de inclusão (HCI) é uma doença viral de grande importância para a avicultura industrial. O vírus envolvido é um adenovírus aviário, em inglês *Fowl adenovirus* (FAdV), que pertence ao gênero *Aviadenovirus*, família Adenoviridae. Estes vírus são divididos em cinco espécies designadas FAdV-A a E, sendo as espécies D e E associadas a HCI (Fitzgerald, 2020).

A doença tem sido descrita em aves jovens, especialmente em lotes de frangos de corte comerciais (Fitzgerald, 2020). A HCI tem ampla distribuição mundial, uma vez que frequentemente são relatados surtos em diferentes países, incluindo o Brasil (Schachner et al., 2018). Um estudo realizado em Minas Gerais detectou o genoma FAdV- D em amostras de fígados de poedeiras, frangos de corte, matriz pesada e aves caipiras (Pereira et al., 2014), evidenciando a ampla distribuição do vírus no plantel nacional.

Macroscopicamente, as lesões hepáticas observadas em aves acometidas pela doença são hepatomegalia, fígado friável e vermelho-pálido, podendo haver áreas de hemorragias, além de áreas brancas focais (Fitzgerald, 2020). No exame histopatológico destes fígados, são descritas áreas de degeneração vacuolar, inflamação discreta, composta por linfócitos e heterófilos e áreas de necrose lítica de hepatócitos. A doença é caracterizada pela presença de corpúsculos de inclusão intranucleares, na maioria das vezes basofílicos, grandes e redondos, preenchendo todo o núcleo, que por vezes está aumentado. Em alguns casos, os corpúsculos podem ser eosinofílicos e circundados por um halo. Hiperplasia de ductos biliares também pode ser observado em alguns casos (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

O diagnóstico definitivo do agente é estabelecido pelo isolamento e identificação viral. Técnicas como a histopatologia com visualização de corpúsculos de inclusão intranucleares, imuno-histoquímica, hibridização *in situ* e microscopia eletrônica também podem auxiliar no diagnóstico (Fitzgerald, 2020).

2.2.4.3. Protozoários

2.2.4.3.1. Histomoníase

A histomoníase, também denominada de entero-hepatite ou doença da cabeça preta é uma doença que acomete aves domésticas e selvagens causada pelo protozoário *Histomonas meleagridis* (Tyzzer, 1934). As aves se infectam pela ingestão de fezes e/ou ovos contaminados pelo helminto *Heterakis gallinarum* contendo *H. meleagridis* (Senties-Cué et al., 2009).

A doença acomete inúmeras espécies aviárias, contudo tem maior importância em perus, onde o curso da doença é mais grave, podendo haver mortalidade de 100% dos lotes acometidos (Popp et al., 2012). Nos últimos anos, relatos sobre esta doença em galinhas tem sido registrados mundialmente. Recentemente, um surto da doença foi descrito em aves de subsistência (Liu et al., 2018). No Brasil, a doença já foi descrita em perus (Brener et al., 2006; Silva et al., 2014), pavões (Trindade et al., 2011; Michelazzo et al., 2017; Sousa et al., 2021) e frangos de subsistência (Araújo et al., 2015). Acredita-se que surtos de histomoníase estejam relacionados ao uso controlado ou restrições de medicamentos em determinadas criações, além da implementação de métodos alternativos na criação de aves (Liu et al., 2018).

Quanto ao diagnóstico, a avaliação macroscópica é importante; contudo, o exame histopatológico para identificação dos trofozoítos é fundamental (Araújo et al., 2015). Os achados macroscópicos são acentuados, e acometem principalmente fígado e ceco, desencadeando um quadro de hepatite e tiflite necrótica. No fígado, as lesões são caracterizadas por áreas de necrose multifocais amarelo-pálidas e deprimidas. Em outros casos, observam-se nódulos brancos multifocais no parênquima hepático (Hauck et al., 2018).

Na histopatologia, inicialmente, há necrose multifocal, associadas a numerosos trofozoítos e infiltrado inflamatório predominantemente composto por linfócitos. Com a progressão da doença, há aumento no número de macrófagos e células gigantes multinucleadas. Na coloração de rotina (hematoxilina e eosina), frequentemente são observados os trofozoítos livres ou no interior de macrófagos e células gigantes, os quais variam de redondos a ovoides, contendo núcleos eosinofílicos, medindo cerca de 10 a 20 μm , circundados por um halo. A visualização dos trofozoítos pode ser dificultada em casos onde estes estejam escassos ou degenerados. Nestes casos, a realização de coloração especial, como o ácido periódico de Schiff (PAS) pode ser essencial para um diagnóstico preciso (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). Outras técnicas de diagnóstico podem ser empregadas, tais como isolamento e cultivo dos parasitas (Liu et al., 2018), imuno-histoquímica (Hauck et al., 2018), além de técnicas moleculares como a PCR (Michelazzo et al., 2017; Liu et al., 2018).

Diagnósticos diferenciais incluem outros protozoários, como *Atoxoplasma*, *Sarcocystis*, *Toxoplasma gondii*, *Leucocytozoon* e *Plasmodium*. Contudo, morfologicamente, estes são possíveis de serem diferenciados microscopicamente, e mais frequentes em aves silvestres (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

2.2.5. Neoplasias

Em aves domésticas, os tumores associados a doença de Marek (DM) e leucose frequentemente são descritos no fígado. Além dessas, neoplasias associadas à infecção pelo vírus da reticuloendoteliose também podem acometer o fígado das aves (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). Recentemente, casos de coinfeção destas doenças foram relatados na avicultura industrial (Wen et al., 2018; Liu et al., 2019) e em aves de fundo de quintal no Brasil (Chacón et al., 2019).

Em um estudo sobre incidência de tumores em aves, o fígado foi o órgão mais acometido. Nestes casos, as principais causas relacionadas foram leucose linfoide (62,5%) e doença de Marek (25%) (Swathi et al., 2012). Um outro estudo recente sobre mortalidade em aves de subsistência nos Estados Unidos demonstrou que o diagnóstico primário mais frequente foi de neoplasia ou doença linfoproliferativa. Destes casos, 63% foram diagnosticados como doença de Marek ou leucose (Cadmus et al., 2019).

2.2.5.1. Doença de Marek

A DM é causada pelo vírus da doença de Marek (VDM), *Gallid herpesvirus 2*, o qual pertence à família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae e gênero *Mardivirus* (Davison, 2010; Hassanin et al., 2013). Possui três sorotipos, sendo o sorotipo 1 (VDM-1) considerado patogênico, devido às suas propriedades oncogênicas (Nair, 2020).

A DM acomete aves jovens, as quais podem apresentar a forma clássica, com envolvimento dos nervos ou a forma aguda, com presença de tumores linfoides em vários tecidos, como o fígado (Nair, 2020). Neste órgão, a maioria destes tumores são multifocais; contudo, podem coalescer, apresentando uma aparência difusa (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016) e coloração branca (Mete et al., 2016). Microscopicamente, ocorre infiltração celular entre os hepatócitos, cuja proliferação tem o predomínio de linfócitos T (linfoblastos) de tamanho pequeno a médio, com pleomorfismo celular (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

No Brasil, casos de DM com lesões tumorais em fígado e/ou outros tecidos já foram descritos em aves de produção no estado de Minas Gerais (Sousa, 2010), em galinhas caipiras no estado do Rio de Janeiro (Abreu et al., 2016), bem como em aves silvestres (Blume et al., 2016). Recentemente, estudos realizados em Minas Gerais, em aves brasileiras comerciais e caipiras, demonstraram a presença de estirpes virais muito virulentas (Torres et al., 2019).

Em aves de subsistência, a doença tem sido relatada como a principal causa de mortalidade (Crespo e Senties-Cue, 2015; Mete et al., 2016). Por outro lado, a incidência da doença em lotes comerciais é variável, e desde a introdução da vacinação, vem apresentando diminuição acentuada, como observado nos Estados Unidos, onde houve queda da taxa de condenação de aves. Contudo, alguns lotes ainda apresentam surtos significativos (Nair, 2020), os quais também podem ser observados em outras espécies aviárias, como codornas (Adedeji et al., 2019) e perdizes (Schock et al., 2016).

O diagnóstico definitivo para DM pode ser estabelecido por exame macroscópico e histopatológico (Abreu et al., 2016). A identificação do agente pode ser realizada por isolamento do vírus, pela detecção do DNA viral (PCR) ou de antígenos em tecidos (imuno-histoquímica) e detecção de anticorpos (Nair, 2020).

2.2.5.2. Leucose

A leucose é uma doença causada pelo vírus da leucose aviária (VLA), que pertence à família Retroviridae e gênero Alpharetrovirus. De acordo com a patogenicidade, as estirpes virais são divididas em 10 subgrupos (A a J), sendo que destes, seis são de interesse em galinhas (A, B, C, D, E e J) (Nair, 2020). O vírus da leucose aviária subgrupo A (VLA-A) favorece o desenvolvimento da leucose linfoide (LL), sendo esta o tipo mais comum, havendo neoplasia na bolsa cloacal com metástase para outros órgãos viscerais. Já o subgrupo J (VLA-J) favorece o desenvolvimento de células da série mielocítica, induzindo um quadro de leucose mieloide (Payne et al., 1991; Nair, 2020).

Diferentemente da DM, a leucose acomete aves mais velhas, acima de 16 semanas. Além do fígado, lesões nodulares em bolsa cloacal são frequentes. Macroscopicamente, o fígado frequentemente está intensamente aumentado e moderadamente firme (Payne et al., 2008; Khan

et al., 2019). A distribuição dos tumores no parênquima hepático pode ser multifocal a difuso (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). Na LL, microscopicamente, a neoplasia é expansiva, o que leva ao deslocamento e compressão de hepatócitos adjacentes. Há proliferação de linfócitos (linfoblastos), com variação discreta em seu tamanho. Na leucose mieloide, nas regiões perivasculares, se estendendo até o parênquima, há proliferação de mielócitos, os quais possuem grânulos eosinofílicos (Mazzocco et al., 2012; Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

Para diagnóstico da doença, estudos recentes realizaram a avaliação macroscópica e histopatológica, associada a técnicas de imuno-histoquímica e PCR (Wen et al., 2018; Liu et al., 2019).

2.2.5.3. Neoplasias primárias

Tumores hepáticos primários são raros em aves domésticas, e estes incluem adenoma hepatocelular, carcinoma hepatocelular, colangioma e colangiocarcinoma (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016; Williams et al., 2020). Em um estudo realizado por Reece (1996), 33 diferentes tipos de neoplasias foram encontradas em 2.281 aves domésticas, sendo que destas, apenas duas foram diagnosticadas com carcinoma hepatocelular, duas com colangioma e quatro com colangiocarcinoma. Em todos os oito casos, as aves acometidas eram galinhas adultas, sendo a maioria poedeiras comerciais. Em patos de Pequim, a ocorrência destes tumores pode estar relacionada a exposição à aflatoxina (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

Macroscopicamente, os adenomas hepatocelulares são caracterizados por grandes massas hepáticas. Na histopatologia, há proliferação de células policlonais, bem diferenciadas, hepatócitos organizados em cordões separados por septos de tecido conjuntivo (Williams et al., 2020). Galinhas diagnosticadas com carcinoma hepatocelular frequentemente apresentam má condição corporal. Nestes casos, macroscopicamente, além de emaciação (Reece, 1996; Rajkhowa e Arya, 2016), pode haver aumento do lobo hepático (Reece, 1996), com substituição multifocal do parênquima. Metástase pulmonar também pode ser observada. Microscopicamente, a neoplasia é caracterizada por células tumorais pouco diferenciadas (Williams et al., 2020), poliédricas, com o dobro do tamanho dos hepatócitos normais, citoplasma levemente granular (Reece, 1996), podendo haver frequentes figuras de mitose, além de células multinucleadas (Williams et al., 2020). Os colangiomas consistem em nódulos focais (Reece, 1996). Na histopatologia, observam-se células epiteliais, por vezes formando estruturas semelhantes a ductos distorcidos, separados por tecido conjuntivo (Williams et al., 2020), com raras figuras de mitose (Reece, 1996). Fígados acometidos por carcinoma colangiocelular podem apresentar nódulos esbranquiçados multifocais distribuídos por todo o parênquima (Reece, 1996). Na microscopia, as células epiteliais raramente formam ductos definidos e são separados por fibroblastos (Williams et al., 2020), sendo frequentes as figuras de mitose (Reece, 1996).

O fígado das galinhas também pode ser acometido por mais de um tipo de neoplasia simultaneamente (Rajkhowa e Arya, 2016). Além disso, pode ser um local de ocorrência de neoplasias que não sejam exclusivas deste órgão, como o hemangioma (Swathi et al., 2012; Rajkhowa e Arya, 2016). Casos de metástase e implantação de tumores, como adenocarcinomas originados do sistema reprodutivo também são descritos nesta espécie (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016).

Em aves, o exame macroscópico auxilia no diagnóstico dos tipos de tumores envolvidos, sendo a histopatologia o método confiável para o diagnóstico da neoplasia (Swathi et al., 2012). Contudo, dependendo da diferenciação ou não das células neoplásicas, exames imunohistoquímicos podem ser necessários (Ramos Vara e Miller, 2014; Ahmed et al., 2018).

Outros agentes infecciosos não diagnosticados neste estudo, mas relacionadas como causa de doença hepática na avicultura industrial e de subsistência, estão listadas na tabela 1.

Tabela 1. Agentes infecciosos que cursam com doença hepática em aves (*Gallus gallus domesticus*) domésticas não encontradas neste estudo.

Agente	Nome da doença	Principais achados
<i>Trueperella pyogenes</i>	-	Lesões granulomatosas em fígado e baço
<i>Staphylococcus</i> sp.	Estafilococose	Necrose hepática multifocal
<i>Mycobacterium avium</i>	Micobacteriose	Lesões granulomatosas e nodulares em fígado
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Erisipela	Necrose hepática
<i>Campylobacter hepaticus</i>	Doenças do fígado manchado (<i>Spotty liver disease</i>)	Necrose hepática multifocal
<i>Clostridium colinum</i>	Enterite ulcerativa	Lesões hemorrágicas e áreas multifocais de necrose com bactérias intralésionais em fígado.
<i>Clostridium perfringens</i>	Enterite necrótica	Colangio-hepatite aguda e colecistite
<i>Chlamydia psittaci</i>	Clamidiose	Hepatite linfo-histiocitária e heterofilica, associada a necrose multifocal, com bactérias cocoides no citoplasma de macrófagos
Hepevírus	Hepatite E	Necrose coagulativa e fibrinoide, hemorragias, infiltração linfocitária perivascular e portal, acúmulo de células mieloides granulocíticas
Paramyxovírus aviário tipo 1	Doença de Newcastle	Hepatite multifocal
Influenza A	Gripe Aviária	Hepatite multifocal, com vasculite
Vírus da leucose aviária sorotipo J	Mielocitomatose	Células mieloides neoplásicas em torno dos vasos sanguíneos, se estendendo ao parênquima hepático

<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aspergilose	Lesões granulomatosas compostas por um centro necrótico rodeado por macrófagos, linfócitos, células gigantes multinucleadas e com hifas intralesionais.
<i>Encephalitozoon hellem</i>	Microsporidiose	Múltiplos focos de necrose de coagulação com pigmento hemossiderina.
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmose	Múltiplos focos de necrose de coagulação associadas aos cistos protozoários, com acúmulo perivascular de células inflamatórias.
<i>Ascaridia galli</i>	Migração errática	Lesões granulomatosas tipo corpo estranho, fragmentos do nemátodeo pode ser encontrado na lesão.

2.3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DAS LESÕES NO FÍGADO

Assim como diversos outros tecidos, o fígado sofre agressões infecciosas e degenerativas, as quais incitam respostas inflamatórias em padrões variados. O termo hepatite é usado para doenças hepáticas focais ou difusas, causadas por agentes infecciosos ou caracterizada por uma resposta inflamatória, independentemente da causa. Na hepatite, os padrões e o caráter da inflamação são variados, e dependem do agente causador, da gravidade e do estágio da doença, da via de entrada no fígado, bem como da patogênese da lesão hepática. A distribuição, caráter e cronicidade dessas lesões são importantes para o diagnóstico (Barros, 2016; Cullen e Stalker, 2016).

A maioria das causas infecciosas de hepatite, como por exemplo as bactérias, produzem um padrão mais irregular de inflamação, geralmente focalmente intenso. Bactérias que chegam através do sistema porta podem induzir respostas localizadas, sendo observado focos de hepatite com necrose. Alguns agentes virais causam hepatite aguda e difusa, com necrose centrolobular a generalizada, associada a infiltrados leucocitários mistos, além de hiperemia e edema. Na hepatite aguda e difusa, o infiltrado de leucócitos estão predominantemente próximos ao espaço porta, em torno dos principais ductos biliares, podendo ser observado na cápsula e ao redor das vênulas centrais. Infiltrado inflamatório perisinusoidal muitas vezes são concentrados focalmente em locais de necrose ou adjacentes a organismos infecciosos. Em casos crônicos, como na hepatite de interface periportal, inicialmente há acometimento de hepatócitos periportais, podendo expandir para o parênquima hepático. A intensidade da inflamação portal é variável. E em casos onde há progressão da fibrose, unindo os sistema porta e as veias centrais, há o desenvolvimento de cirrose (Cullen e Stalker, 2016).

Em relação a necrose, mais de um padrão pode ser encontrado no fígado. A distribuição da necrose e sua interpretação tem importância prática pois, cada padrão é mais ou menos específico de um grupo de agentes etiológicos (Barros, 2016; Cullen e Stalker, 2016).

A necrose hepatocelular aleatória focal ou multifocal ocorrem em hepatócitos esparsos ou agregados de hepatócitos com distribuição focal ou multifocal no parênquima hepático. O termo “aleatória” indica que os focos de necrose não seguem um padrão anatômico consistente (centro-lobular, médio zonal ou perilobular), mas distribuem-se ao acaso, sem uma localização previsível no interior do lóbulo (Barros, 2016). Lesões necróticas focais são frequentes e as lesões são geralmente numerosas, com tendência a ocorrer mais próximas aos vasos portais com concentração maior em alguns lóbulos do que em outros. É relacionada a diversos agentes infecciosos, incluindo vírus, protozoários e bactérias septicêmicas, como a *Salmonella* spp. (Barros, 2016; Cullen e Stalker, 2016). Nestes casos, a necrose pode ser o resultado de uma reação das células de *Kupffer*. A necrose focal possui pouco significado funcional para o fígado; contudo, possui grande importância para o diagnóstico de doenças como a salmonelose. A necrose centrolobular é uma lesão hepática comum em resposta à intoxicação ou hipóxia. Os hepatócitos na região centrolobular são vulneráveis à necrose, uma vez que estão mais distantes da entrada arterial e portal. Nestes casos, histologicamente, a necrose é predominantemente em região centrolobular. Associado as áreas de necrose, frequentemente há degeneração hidrópica ou alteração gordurosa. A necrose mediozonal pode ser decorrente de algumas intoxicações, nestes casos acometendo apenas uma faixa estreita e bem definida de hepatócitos. A necrose periportal é menos frequente, sendo relacionada a hepatotoxinas. Na necrose massiva, há comprometimento de um lóbulo hepático inteiro. Neste caso, todas as células do lóbulo acometido estão mortas e sua distribuição frequentemente é relacionada à distribuição de vasos maiores, podendo ser encontradas lesões agudas e crônicas (Cullen e Stalker, 2016).

Em relação as formas morfológicas de lesão hepática induzidas por hepatotoxinas, estas são variadas. Em casos agudos, a histologia é caracterizada por necrose de coagulação centrolobular, sendo raramente, periportal ou mediozonal (Barros, 2016; Cullen e Stalker, 2016). A necrose centrolobular é a mais comum de todos os tipos de necrose zonal porque o centro do lóbulo é mais sensível a hipóxia e os hepatócitos dessa região concentram maior quantidade de enzimas mistas, as quais transformam certas substâncias exógenas em compostos tóxicos (Barros, 2016). Adjacente às áreas de necrose, pode haver degeneração gordurosa ou hidrópica. Em casos crônicos, as lesões podem ser diversas, havendo áreas de necrose com infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, esteatose, cirrose, colangite, reação ductular (hiperplasia biliar), dentre outros (Cullen e Stalker, 2016).

A distribuição da fibrose no fígado também é relacionada a patogênese da lesão responsável. Doenças inflamatórias que produzem necrose gradativa formam septos fibrosos ligando um espaço portal a outro (fibrose porta-portal) ou conectando um espaço portal a vênula

centrolobular (fibrose centro-portal). A fibrose difusa é o resultado de um processo inflamatório prolongado ou múltiplos episódios de necrose zonal. A fibrose centrolobular é o padrão mais comum após necrose zonal ou hiperemia passiva crônica em decorrência a hipóxia ou por causa tóxica (Cullen e Stalker, 2016).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras

Foram incluídas neste estudo, aves (*Gallus gallus domesticus*) de produção (corte e postura) e de subsistência, as quais foram submetidas a exame *post-mortem* e/ou análise histopatológica, dentre outros exames realizados no setor de Patologia Veterinária do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias (DCCV) e no laboratório de doenças das aves do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG). O estudo foi retrospectivo e prospectivo e o período de amostragem compreendeu o período de janeiro de 2006 a janeiro de 2021 (15 anos). Duzentas e quarenta e três aves foram incluídas, das quais, 28 apresentaram dois diagnósticos distintos. Também foram incluídos 29 casos referentes a “pool” de fígados e outros tecidos. Assim, cada “pool” foi contabilizado como sendo um caso/ave, totalizando assim 300 casos/diagnósticos (Tabela 2). Estas amostras pertenciam a criações localizadas em Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Distrito Federal.

Tabela 2. Relação de amostras de aves domésticas diagnosticadas com alterações hepáticas incluídas neste estudo.

Ave	Nº (aves)	Aves com dois diagnósticos	Nº (pools)	Total de casos
FC	124	13	23	160
GP	89	9	5	103
AS	30	6	1	37
Total geral	243	28	29	300

Legenda: Nº= número. FC= frango de corte. GP= galinha de postura. AS= ave de subsistência.

3.2. Coleta de dados

Foram recuperados do arquivo do Laboratório de Patologia Veterinária da EV-UFMG todos os laudos anátomo-histopatológicos de aves domésticas, juntamente com os dados referentes a cada ave. Foram incluídos neste estudo os casos onde se obteve o diagnóstico de alteração ou doença hepática por necropsia e histopatologia de rotina, além de diagnósticos confirmados por

técnicas bacteriológicas, moleculares, imuno-histoquímicas e histoquímicas. A microscopia eletrônica foi utilizada para um tipo de diagnóstico.

3.3. Necropsia e histopatologia

As necropsias foram realizadas no setor de Patologia da EV-UFMG, seguindo os padrões referentes à espécie. Quando necessário, a eutanásia foi realizada pelo método de deslocamento cervical no “Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia em Animais”, Lei nº 5.517, de 23 de outubro de 1968, Resolução CFMV nº 1000/2012 (GUIA BRASILEIRO DE BOAS PRÁTICAS EM EUTANÁSIA EM ANIMAIS, 2012). Durante a necropsia foi realizada a avaliação macroscópica dos órgãos com descrição detalhada das lesões encontradas. Em muitos casos, as necropsias foram realizadas nas granjas/propriedades, sendo encaminhadas amostras pelos veterinários/proprietários com a finalidade de diagnóstico histopatológico (somente amostras fixadas em formalina 10%), assim impossibilitando a realização de outros exames complementares, tais como o bacteriológico.

Para a histopatologia, foram coletadas amostras de fígado e outros tecidos que eventualmente apresentavam alterações, variável de acordo com o caso. Estas amostras foram submetidas à técnica de processamento histológico de rotina, conforme Luna (1968). Inicialmente foram fixadas em formalina tamponada neutra a 10% por 48 horas, clivadas e processadas em séries crescentes de álcool, xilol, seguidas de inclusão em parafina, seccionadas no micrótomo a 4,0 µm de espessura e posteriormente coradas pela hematoxilina e eosina (HE). Em seguida, estas amostras foram analisadas em microscopia de luz branca. Quando possível, exames auxiliares foram utilizados de acordo com a indicação após exame macroscópico e/ou histopatológico. Os exames incluíram colorações especiais, imuno-histoquímica, bacteriologia, PCR e microscopia eletrônica.

3.4. Histoquímica

Coloração especial pelo ácido periódico de Schiff (do inglês *Periodic Acid-Schiff*; PAS), vermelho congo, Azul da Prússia (Perls) e tricrômico de Masson (Prophet et al., 1992) foram realizadas em alguns fígados com lesões macroscópicas e histológicas sugestivas de processos degenerativos como degeneração glicogênica, hepatite protozoária, como histomoníase, processos metabólicos, como amiloidose e hemossiderose e processos crônicos (fibrose), respectivamente. Nos casos onde realizou-se vermelho congo, as amostras foram analisadas em microscopia de luz polarizada.

3.5. Imuno-histoquímica

A imuno-histoquímica para identificação *in situ* do gênero *Salmonella* foi realizada na EMBRAPA suínos e aves (Concórdia, Santa Catarina), em fígado e baço de três casos, utilizando um anticorpo policlonal *Salmonella* polivalente (Probac do Brasil, São Paulo, SP). A diluição utilizada foi de 1:2.000. Cortes histológicos de 3 µm sobre lâminas silanizadas foram deparafinados em estufa a 60°C por 30 minutos, seguidos por dois banhos de xilol, com 15 minutos cada. Em sequência, foi realizada reidratação com dois banhos em álcool absoluto, um banho em álcool 90% e em álcool 80%, cinco minutos cada. Por fim, em água destilada por 10 minutos. A recuperação antigênica foi realizada com 40 ml do tampão citrato em 360 ml de água destilada, a 95°C por 10 minutos. Em seguida, as lâminas foram resfriadas a temperatura ambiente, por 20 minutos. Na etapa de bloqueio da peroxidase endógena, diluiu-se 90 ml de peróxido de hidrogênio em 180 ml de metanol. Em sequência, ocorreu o bloqueio de ligações inespecíficas, diluindo 0,5 g de leite em pó em 20 ml de PBS, aquecendo em microondas por 10 segundos. As lâminas foram colocadas em câmara úmida, cobrindo todo o corte com o soro bloqueio, mantendo em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, ocorreu a diluição do anticorpo primário, o qual foi disposto sobre a lâmina cobrindo todo o tecido e posterior incubação a 4°C por 16 horas (*overnight*). Após esta etapa, realizou-se a incubação com anticorpo secundário com o sistema comercial Envision Dual Link (Leica Biosystems), de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante. Para a revelação, dilui-se 20 µl de 3.3'-diaminobenzidina (DAB) em 1 ml de substrato, cobrindo todo o tecido com a solução, deixando as lâminas na câmara úmida em temperatura ambiente por 30 minutos. As lâminas foram lavadas com água corrente por 10 minutos, contracoradas com hematoxilina por 4 segundos e, posteriormente, desidratadas e montadas para serem lidas em microscópio de luz branca.

3.6. Bacteriologia

Amostras de fígados e eventualmente outros tecidos (baço e/ou músculo peitoral) de aves com suspeita de infecção bacteriana, obtidas durante exame de necropsia ou recebidas resfriadas, foram coletadas ou amostradas de forma asséptica, maceradas e semeadas em cultivo bacteriano aeróbico em meio Ágar Soja Trypticaseína (TSA; Kasvi), contendo 5% de sangue ovino e em meio Ágar MacConkey (MCC; OXOID) (Braga et al., 2016) e, em seguida, incubadas a 37 °C por 24 a 72 horas. Adicionalmente, foram realizados testes de catalase e oxidase. Por fim, os isolados foram identificados pelo equipamento Microflex MALDI Biotyper (Empresa BD/Bruker) (Leão et al., 2018). Para pesquisa de *Salmonella* spp. foi utilizado o protocolo recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 1995). Fragmentos de aproximadamente 2 g de fígado e baço foram colocados em tubos estéreis com 18

mL de caldo de infusão de cérebro (BHI; OXOID) que foram incubados a 37 ° C por 24 h. Depois disso, as amostras foram semeadas em placas de ágar MacConkey (MCC; OXOID) e verde brilhante (VB; OXOID), as quais foram incubadas a 37 ° C por 24 horas. Após o período de incubação, realizou-se a avaliação das características morfológicas das colônias obtidas. Cerca de cinco colônias de cada amostra apresentando características sugestivas de *Salmonella* spp. foram submetidas à triagem bioquímica em ágar triplo açúcar ferro (TSI, OXOID), ágar lisina ferro (LIA, OXOID), ágar sulfeto indol motilidade (SIM, KASVI) e ureia. Aquelas com perfil bioquímico compatível com *Salmonella* spp. foram submetidas a sorologia (inclusive de *S. Gallinarum* ou *S. Pullorum*). Para isso, foram semeadas em ágar BHI (OXOID) e, em seguida, testados com soros polivalentes anti-antígenos somáticos (O) e flagelares (H) de *Salmonella* spp. (Probac). Colônias com características de *S. Gallinarum* ou *S. Pullorum* (imóveis, pouca ou ausência de produção de H₂S e negativas na sorologia para antígenos H) foram ainda submetidas à genotipagem para confirmação de *S. Gallinarum* ou de *S. Pullorum*, seguindo a metodologia descrita por Batista et al. (2016) a seguir. As demais colônias foram identificadas como *Salmonella* spp.

3.7. Genotipagem para identificação de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Gallinarum biovar Gallinarum ou Pullorum

Para a genotipagem, primeiramente foi realizada a extração do DNA bacteriano, como detalhado a seguir.

3.7.1. Extração do DNA bacteriano

No dia anterior ao procedimento de extração, as colônias sugestivas de *S. Gallinarum* ou *S. Pullorum* foram semeadas em tubos contendo 10 mL de caldo lisogenia (LB, BD Difco) os quais foram incubados a 37 ° C por 18 horas. O material genético das estirpes selvagem e mutante de SG foi extraído conforme metodologia descrita por Marmur (1961), com modificações. A composição do tampão de lise utilizado possuiu a seguinte composição Tris-HCl (pH 8) (100 mM), EDTA (pH 8) (50 mM), NaCl (100 mM) e SDS (0,5 %).

Após o período de incubação foi aliquoteado 1 mL da cultura em um microtubos de 2 mL os quais foram centrifugados a 9.659 x g por 5 minutos em minicentrífuga (Eppendorf). O sobrenadante de cada tubo foi descartado e o sedimento ressuspendido em 700 µL de tampão de lise após homogeneização em agitador vórtex. Os microtubos foram colocados em termobloco (VHD) previamente aquecido a 65 ° C e mantidos a essa temperatura. Em intervalos de 15 minutos, os microtubos eram agitados vagarosamente por inversão. Ao final de 1 hora de incubação, as amostras foram esfriadas em temperatura ambiente por 20 minutos. Posteriormente,

350 µL de acetato de potássio (Synth) (5 M, pH 8) a 4 °C foi adicionado em cada microtubo e o conteúdo foi agitado suavemente até obter um coágulo de aspecto leitoso. Logo após, os microtubos foram imersos em gelo triturado por 30 minutos, sendo inversos somente uma vez durante esse período. Ao final, foram adicionados 700 µL de solução de clorofórmio (Synth) e álcool isoamílico (Synth) na relação 24:1 a 4 °C e os microtubos foram agitados por inversão por 5 minutos. As amostras foram centrifugadas a 9.659 x g por 10 minutos e a mistura ficou dividida em três fases. Dessa forma, foi transferido somente o sobrenadante da primeira fase para o novo microtubo estéril de 2 mL. Posteriormente, adicionou-se 1 mL de etanol absoluto (Synth) a 4 °C e as amostras foram agitadas vagarosamente por inversão por 10 vezes. Ao término, os microtubos foram acondicionados em freezer a -20 °C *overnight*. No dia seguinte, as amostras foram colocadas a temperatura ambiente, invertidas suavemente por cinco vezes e centrifugadas a 9.659 x g por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e 1 mL de etanol 70 % (v/v) foi adicionado. Imediatamente, os microtubos submetidos à centrifugação por 9.659 x g por 15 minutos e o sobrenadante foi descartado. Os sedimentos foram secos em termoboloco previamente aquecido a 37 °C por 30 minutos, aproximadamente. As amostras de DNA purificadas foram eluídas em 50 µL água ultrapura (Sigma-Aldrich) e, posteriormente, acondicionadas a 4 °C *overnight*. Ao término, a qualidade nas relações 260/230 e 260/280 e a quantidade (ng/µL) de DNA cromossomal foram mensuradas por meio de espectrofotometria em aparelho NanoVue® (GE, Healthcare).

3.7.2. PCR duplex

O DNA extraído das amostras foi submetido à amplificação pela reação em cadeia da polimerase com um conjunto de dois pares de *primers*, conforme descrito por Batista et al. (2016). Os *primers* utilizados amplificam simultaneamente duas regiões cromossomais. O primeiro segmento, denominado de região identificadora do sorotipo (RIS) é uma região única do sorovar Gallinarum. O segundo conjunto amplifica o gene *ratA* que é polimórfico, permitindo diferenciar em biovar Gallinarum ou Pullorum. O produto dos oligonucleotídeos RIS: *Forward* 5'-TACGGGACGAGTGGGTA CTT-3' e *Reverse* – 5'-AGATGCCCCACCACTCAAAG-3' apresenta tamanho de 543 pares de bases (pb). O *amplicon* gerado pelos oligonucleotídeos *ratA*: *Forward* 5'- GACGTCGCTGCCGTCGTACC-3' e *Reverse* 5'-TACAGCGAACATGCGGGCGG-3' diferencia os dois biovars, por resultar em um *amplicon* de 1.047 pb para o biovar Gallinarum ou de 243 pb para o biovar Pullorum.

O ensaio de PCR duplex foi estabelecido com volume final de 25µL contendo: 20ng de DNA, tampão 1X (20 mM Tris-HCl pH 7,9, 100mM KCl – Phoneutria), 240µM de dNTP (Phoneutria), 3,6mM de MgCl₂ (Phoneutria), 0,8µM de cada iniciador, 1,25 Unidade de Taq

Polimerase (Taq DNA Polymerase – Phoneutria) e água ultra pura q.s.p. A PCR foi realizada em termociclador modelo A4 85-264VAC (Nyx Technik, San Diego, California).

As condições de amplificação foram de um ciclo inicial de desnaturação a 94°C por 3 minutos, seguido por 26 ciclos de desnaturação a 94°C por 45 segundos, pareamento a 63°C por 45 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto, e extensão final a 72°C por 7 minutos. Foram utilizados como controles positivos, DNAs extraídos da colônia de referência *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Gallinarum biovar Gallinarum estirpe 287/91 e de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Gallinarum biovar Pullorum estirpe ATCC 9120. Como controles negativos, DNAs extraídos de fígado de aves livres de patógeno específicos e DNA extraído da colônia de referência *Escherichia coli* ATCC 25922.

3.8. Extração de DNA pelo método sílica

Foi executado método de extração de DNA com a finalidade de obter amostras de DNA do adenovírus aviário em cinco amostras de frangos com lesões histológicas indicativas de adenovirose. Para a extração de DNA total em amostras de fígados, baços e timo, foi utilizado um protocolo a base de iodeto de sódio (NaI) 6M (Vogelstein e Gillespie, 1979; Boom et al., 1990) e dióxido de silício (Boom et al., 1990). Posteriormente, o DNA total de cada amostra foi acondicionado em microtubo estéril e armazenado a -20°C até a realização da PCR para detecção do gene hexon do adenovírus aviário.

3.9. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

O DNA extraído foi submetido ao teste de PCR utilizando-se condições de reação e oligonucleotídeos para adenovírus aviário, de acordo com o método descrito por Meulemans et al. (2001). Para amplificação parcial dos ácidos nucleicos do gene da proteína hexon do adenovírus, foram utilizados os pares de *primers*: Forward 5'- CAARTTCAGRCAGACGGT-3' e Reverse 5'-TAGTGATGMC GSGACATCAT-3', os quais resultaram em um produto de 897 pares de base (pb) (Meulemans et al., 2001). Para controle positivo foram utilizadas amostras previamente confirmadas para este agente. Para o controle negativo, o DNA foi substituído por água ultrapura. Para detecção do DNA do vírus da anemia infecciosa das galinhas (do inglês *Chicken anemia virus*- CAV), foi realizado nested PCR, de acordo com Cadorna et al. (2000). Para isso, para amplificar um segmento do gene VPI, foram utilizados *primers* externos O3F: 5'- (CAAGTAATTTCAAATGAACG)-3' e O3R: 3'-(TTGCCATCT TACAGTCTTAT)-5' e *primers* internos N3: 5'-(CCACCCGGACCATCAAC)-3' e N4: 3'-(GGTCCTCAAGTCCGGCACATTC)-5', resultando em um produto de 183 pares de base (pb).

Os produtos amplificados foram analisados pelo sistema de eletroforese em gel de agarose a 1,5%, 100V em TBE (Tris-base 100mM pH8,3, EDTA 25mM e ácido bórico 50mM). O DNA foi revelado por transiluminação do gel (Biotium, EUA) em luz ultravioleta (280nm). O tamanho dos produtos amplificados (897 pb e 183 pb, respectivamente) foram comparados a um padrão de peso molecular.

3.10. Sequenciamento

O produto amplificado por PCR para o adenovírus aviário foi sequenciado pelo Big Dye Terminator Mix (Aplicado Biosystems, EUA), em um sequenciador capilar automatizado (ABI 310, Applied Biosystems), seguindo as recomendações do fabricante.

3.11. Microscopia eletrônica (ME)

Fígados fixados em formalina tamponada, diagnosticados com amiloidose acentuada pela histopatologia e histoquímica, foram seccionados em fragmentos menores, lavados em água destilada e pós-fixados em glutaraldeído diluído em solução tampão de PBS. Em seguida, as amostras foram lavadas, desidratadas com série de álcoois graduados, introduzidas em resina, cortadas em secções ultrafinas, colocadas em grades de cobre e contrastadas, conforme descrito por Nakayama et al. (2017). Por fim, foram analisadas em microscópio eletrônico de transmissão e as imagens obtidas de forma digital. O processamento foi realizado no centro de microscopia eletrônica da Universidade Federal de Minas Gerais.

4. RESULTADOS

4.1. População de aves do estudo

Das 272 aves (243 aves individuais e “pool” de 29 aves) diagnosticadas com alterações hepáticas, 147 (54%) eram frangos de corte (FC) (incluindo cinco matrizes pesadas), 94 (35%) eram galinhas poedeiras (GP) e 31 (11%) eram aves de subsistência (AS). Destas aves, foram obtidos 300 diagnósticos de alterações hepáticas. A idade das aves examinadas variou de um dia a 109 semanas. Em 52 casos (19%) a idade da ave não foi registrada. A maioria das aves pertenciam a criações localizadas no estado de Minas Gerais (n= 236; 87%). As demais aves pertenciam aos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, além do Distrito Federal. O estudo compreende 15 anos, sendo que destes, no ano de 2018 (n= 34; 12,5%) foi registrado o maior número de casos no banco de dados.

4.2. Diagnóstico

Em todas as 272 aves, realizou-se necropsia e/ou histopatologia. Contudo, 79% de amostras foram encaminhadas para histopatologia somente, impossibilitando a realização de exames microbiológicos. Para as aves em que houve a indicação e a possibilidade de realizar exames auxiliares, os resultados estão listados na tabela 3.

Tabela 3. Relação do número de aves, exames auxiliares e o diagnóstico das alterações ou doenças hepáticas em aves de produção e de subsistência analisadas no período de 2006 a 2021.

Bacteriológico			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Frango de corte	3	<i>Escherichia coli</i>	Colibacilose
	7	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Estreptococose
Galinha de postura	14	<i>Salmonella</i> spp.	Salmonelose
	4	<i>Streptococcus gallinarum</i>	Estreptococose
	5	<i>Escherichia coli</i>	Colibacilose
Ave de subsistência	1	<i>Escherichia coli</i>	Colibacilose
	3	<i>Salmonella</i> spp	Salmonelose
Total	37		
Sorotipificação			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Galinha de postura	10	<i>Salmonella</i> Gallinarum	Tifo aviário
Ave de subsistência	3	<i>Salmonella</i> Gallinarum	Tifo aviário
Total	13		
Histoquímica/ Ácido periódico de Schiff (PAS)			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Frango de corte	26	NA	Degeneração glicogênica
Ave de subsistência	4	<i>Histomonas meleagridis</i>	Histomoníase
Histoquímica/Vermelho-congo			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Galinha de postura	29	NA	Amiloidose
Total	29		
Histoquímica/Azul da Prússia			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Galinha de postura	2	NA	Hemossiderose
Total	2		
Histoquímica/Tricrômico de Masson			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Galinha de postura	2	NA	Fibrose
Total	2		
Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Frango de corte*	3	<i>Aviadenovirus</i>	Hepatite por corpúsculo de inclusão
Total	3		
Imuno-histoquímica			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Ave de subsistência	1	NA	Adenoma hepatocelular
Ave de subsistência	3	<i>Salmonella</i> spp.	Salmonelose
Total	3		
Microscopia eletrônica			
Ave	N	Agente etiológico	Diagnóstico
Galinha de postura	7	NA	Amiloidose
Total	7		
Total geral	127		

Legenda: N= quantidade. * = Matriz pesada. NA= não se aplica.

Das 272 aves examinadas, 28 foram acometidas por mais de uma alteração hepática, gerando assim mais de um diagnóstico etiológico, totalizando 300 diagnósticos com diferentes etiologias. Frangos de corte (FC) compreenderam 53% dos casos, galinhas de postura (GP) 34,5% e aves de subsistência (AS) 12,5% (Figura 2).

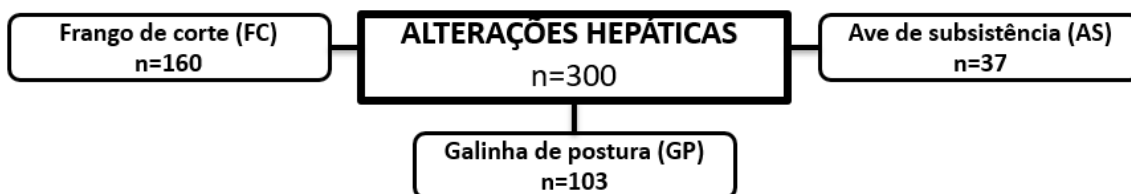


Figura 2. Distribuição do número de diagnósticos de alterações hepáticas quanto ao tipo de ave acometida analisadas no período de 2006 a 2021.

As alterações hepáticas de origem não infecciosa foram as mais frequentes, com 68% dos casos. Neste estudo, as aves foram diagnosticadas mais frequentemente com alterações degenerativas (42%), seguido por doenças bacterianas (28%), metabólicas (15%), tóxicas (8%), virais (3%), neoplásicas (2%), doenças por protozoários (1,5%) e por fim distúrbios circulatórios (0,5%). Aves acometidas por doenças infecciosas foram 95/300 (32%), as quais foram mais frequentemente acometidas por bactérias (87%), vírus (9%) e protozoários (4%) (Figura 3). Comparando os três grupos de aves, as alterações degenerativas (77%) e tóxicas (79%) foram mais frequentes em frangos de corte, assim como as doenças virais (100%). As alterações circulatórias (100%), doenças metabólicas (74%) e bacterianas (48%) foram mais frequentes nas poedeiras, enquanto as aves de subsistência representaram a maioria dos casos de neoplasias (83%) e todos os casos de hepatite protozoária (100%) (Tabela 4).

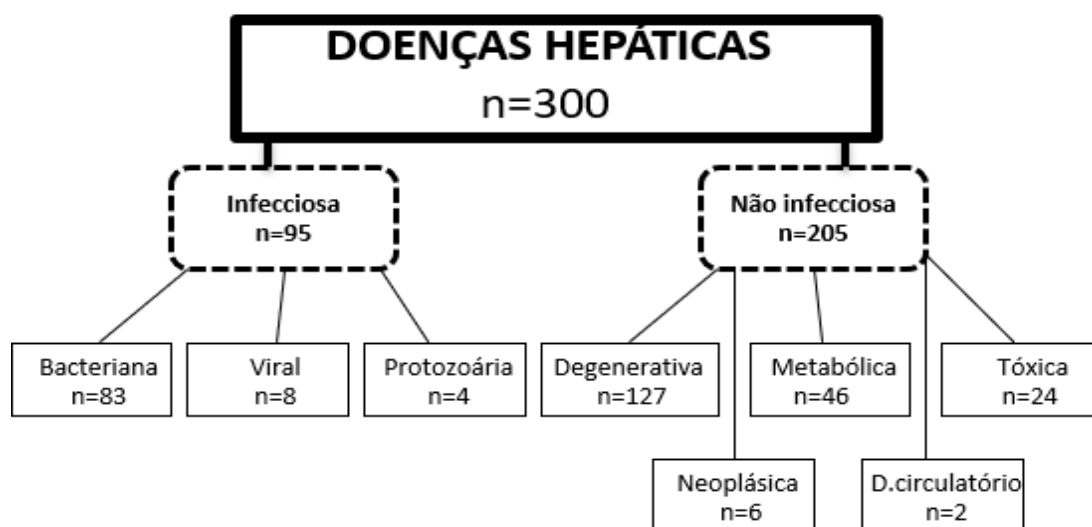


Figura 3. Distribuição dos diagnósticos de alterações hepáticas em aves de produção e de subsistência analisadas no período de 2006 a 2021, quanto à etiologia infecciosa e não infecciosa.

Tabela 4. Diagnósticos de alterações hepáticas por classificação etiológica em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*).

Não infecciosas					
	Diagnóstico	Ave			Total
		FC	GP	AS	
Degenerativa	Degeneração lípídica	63	14	7	84
	Degeneração glicogênica	35	6	2	43
n / %		98/77	20/16	9/7	127/100
Metabólica	Amiloidose	0	29	3	32
	Hemossiderose	0	2	6	8
	Hepatopatia úrica	0	0	3	3
	Síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico	0	3	0	3
	n / %		0/0	34/74	12/26
Tóxica	Hepatopatia tóxica /indeterminada	19	5	0	24
	n / %	19/79	5/21	0/0	24/100
Distúrbio circulatório	Fígado cardíaco	0	2	0	2
n / %		0/0	2/100	0/0	2/100
Neoplásica	Leucose	0	1	2	3
	Doença de Marek	0	0	2	2
	Adenoma hepatocelular	0	0	1	1
	n / %	0/0	1/17	5/83	6/100
Total		117	62	26	205
Infecciosas					
Bacteriana	Indeterminado	25	18	3	46
	Salmonelose	0	14	3	17
	Colibacilose	3	5	1	9
	Estreptococose	7	4	0	11
	n / %		35/42	41/49	7/9
Viral	Hepatite por corpúsculo de inclusão*	5	0	0	5
	Indeterminado	3	0	0	3
	n / %	8/100	0/0	0/0	8/100
Protozoária	Histomoníase	0	0	4	4
n / %		0/0	0/0	4/100	4/100
Total		43	41	11	95
Total geral		160/53	103/34,5	37/12,5	300/100

Legenda: n= quantidade. FC= frango de corte. GP= galinha de postura. AS= ave de subsistência.

* = Matriz pesada.

As alterações hepáticas encontradas neste estudo serão descritas a seguir por ordem de frequência, seguindo o grupo de aves (FC, GP e AS) e seus diagnósticos, respectivamente. Serão abordadas informações sobre as aves, tais como idade, histórico clínico, alterações hepáticas macroscópicas e histológicas, bem como exames auxiliares, quando estes foram realizados.

4.3. Frangos de corte

Dos 147 frangos ou aves de corte, cinco eram matrizes pesadas e em 13 aves havia dois diagnósticos distintos, compreendendo ao todo 160 diagnósticos etiológicos. Nestas aves, as alterações degenerativas foram as mais frequentes, seguido por doenças bacterianas, causas tóxicas e por fim doenças virais (Figura 4). A idade destas aves variou de um a 45 dias.

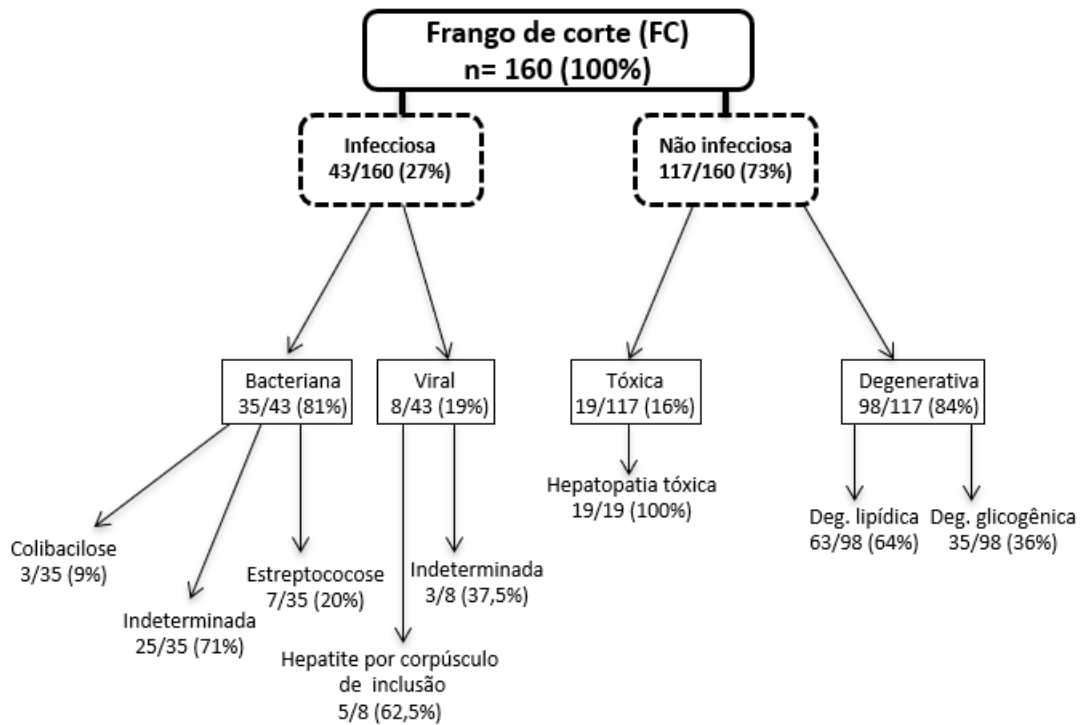


Figura 4. Distribuição dos diagnósticos de alterações hepáticas em frangos de corte, quanto à etiologia infecciosa e não infecciosa.

4.3.1. Alterações degenerativas

Alterações hepáticas degenerativas foram diagnosticadas em 98 frangos, destes casos, 63 (63/98) foram relacionados à degeneração lipídica (casos 93 a 155), e 35 (35/98) à degeneração glicogênica (casos 173 a 207). Doze aves (casos 144 a 155; 196 a 207) foram acometidas por ambas as degenerações. A idade das aves acometidas por lipidose variou de quatro dias a 45 dias, sendo que a maioria (n= 41/63; 65%) eram aves acima de 30 dias. Aquelas diagnosticadas com degeneração glicogênica tinham idade variando de quatro dias a 40 dias. Destas aves, a maioria (n=15/35; 43%) tinham quatro dias.

4.3.1.1. Histórico clínico

Dos 63 diagnósticos de degeneração lipídica, 35 (35/63) eram fígados provenientes de abatedouros, os quais foram condenados pelo serviço de inspeção sanitária durante o abate (casos 93, 94; 96 a 115; 129,130; 132 a 141; 143). Em dois (2/63) casos (95 e 131) as aves eram refugas, e em um (1/63) caso (142) a ave apresentava sinais clínicos respiratórios. Aumento da mortalidade foi descrito em 5 (5/63) casos (116 a 120). Dos 35 diagnósticos de degeneração glicogênica, 5 (5/35) também foram de fígados condenados na linha de abate (casos 191 a 195). Em oito (8/35)

casos (177 a 184), as aves eram refugas e em seis (6/35) apresentavam baixo ganho de peso corporal (casos 184 a 189). Aumento da mortalidade foi descrito em 4 (4/35) casos (173 a 176).

4.3.1.2. Achados anátomo-histopatológicos

Macroscopicamente, 43 fígados (43/63) com lipidose estavam amarelados, em diferentes intensidades, friáveis (40/63), de aspecto untuoso (20/63), com áreas multifocais vermelho-escuras (10/63) ou esbranquiçadas que se aprofundavam ao corte (6/63) e com pontos brancos milimétricos multifocais (2/63). Na histopatologia de todas as amostras (63/63), a maioria dos hepatócitos estavam aumentados de volume, contendo em seu interior vacúolos intracitoplasmáticos bem delimitados, únicos e com núcleo deslocado para a periferia. Fígados acometidos por degeneração glicogênica estavam levemente esbranquiçados a amarelados (20/35), com acentuação do padrão lobular e áreas avermelhadas na superfície, que aprofundavam ao corte (5/35). A histopatologia hepática revelou vacuolização intracitoplasmática, com vacúolos pequenos e pobremente delimitados (Figura 5A), com intensidades variadas (35/35).

4.3.1.3. Exames auxiliares

Vinte e seis fígados (casos 177 a 190, 196 a 207) diagnosticados histologicamente com degeneração glicogênica pela coloração de rotina (hematoxilina eosina- HE), foram submetidos à coloração especial, sendo todas PAS positivas (Figura 5B).

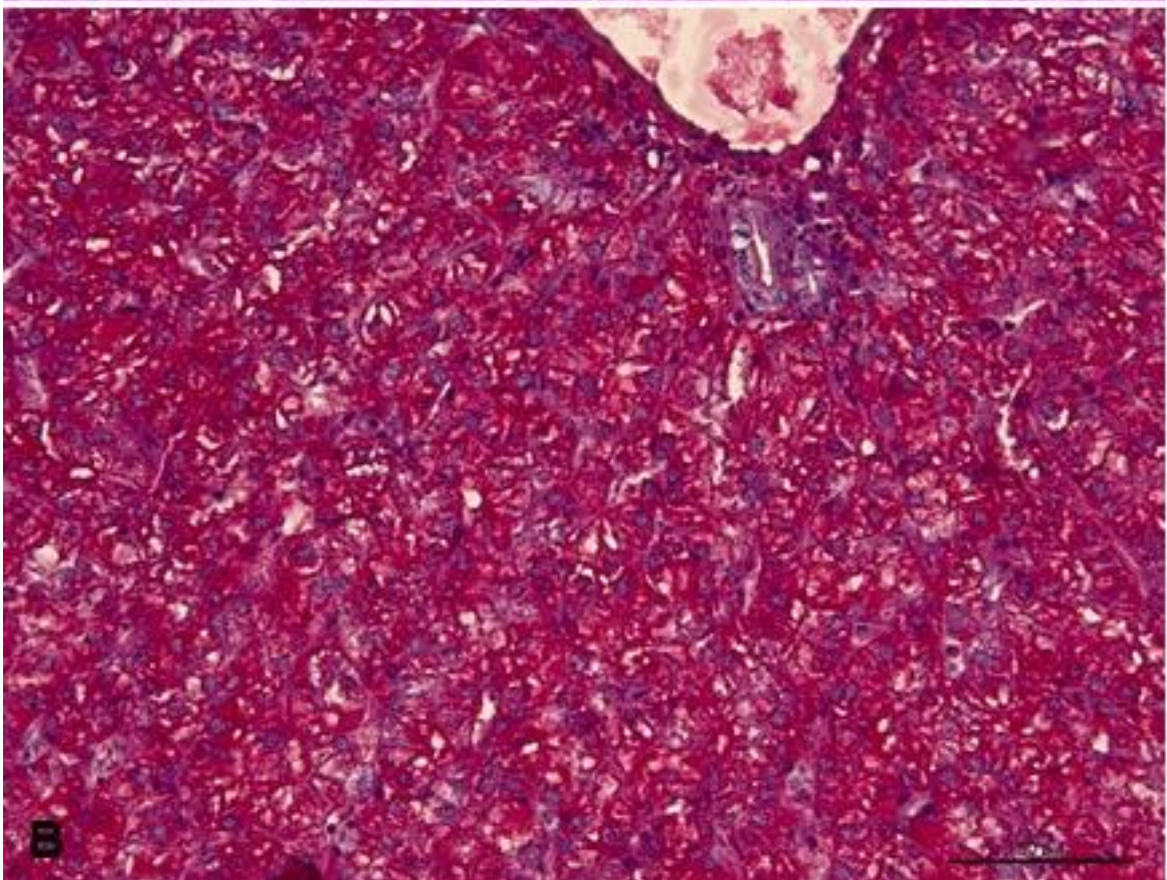
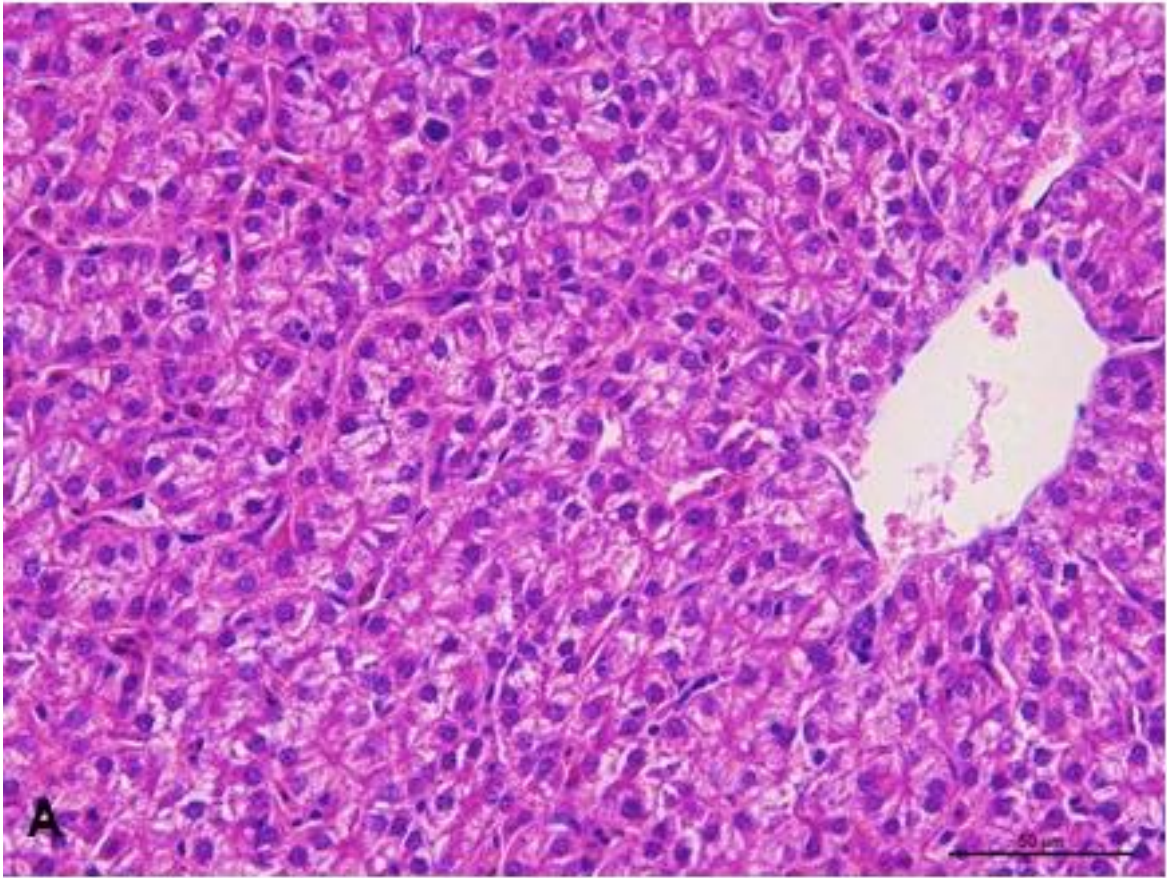


Figura 5. Achados histopatológicos e histoquímicos em frango de corte (caso 185), de 27 dias, com degeneração glicogênica. Fígado. (A) Vacuolização intracitoplasmática acentuada, com vacúolos pequenos e pobremente delimitados, por vezes rendilhados. Na maioria dos hepatócitos o núcleo está localizado centralmente. Barra: 50µm. Hematoxilina eosina. (B) Deposição acentuada de glicogênio intracitoplasmático, PAS-positivos. Barra: 50µm. Ácido periódico de Schiff (PAS).

4.3.2. Doenças bacterianas

Hepatites bacterianas ocorreram em 35 frangos de corte. Destes casos, dez (10/35) foram confirmados por exame bacteriológico, sendo sete (7/10) casos (27 a 33) atribuídos à bactéria *Streptococcus gallolyticus* em aves de 21 dias e três (3/10) casos (18 a 20) associados à *Escherichia coli*, em aves com 11 dias de idade. Em 25 (25/35) casos (38 a 62), não foi possível determinar o agente bacteriano envolvido. Nestes casos, a idade das aves acometidas variou de um a 45 dias.

4.3.2.1. Histórico clínico

Nas aves em que não foi possível estabelecer o agente envolvido (25/35), observou-se aumento de mortalidade em sete (7/25) casos (45,49, 52, 57, 58, 61,62). O principal sinal clínico descrito foi apatia (5/25). Sinais envolvendo o sistema respiratório foram descritos em três (3/25) aves, desidratação em duas (2/35), assim como retenção do saco da gema (2/25). Nas aves com colibacilose, foi descrito aumento de mortalidade e desuniformidade em 16% do lote.

4.3.2.2. Achados anátomo-histopatológicos

Os principais achados observados nos fígados das aves de causa bacteriana indeterminada foram pontos ou áreas brancas subcapsulares e no parênquima (11/25), hepatomegalia (3/25), sendo que destes, dois (2/25) estavam vermelho-escuros e um (1/25) esverdeado, recoberto por fibrina. Em dois casos (2/25) havia áreas de hemorragia. Na histopatologia destes casos as lesões eram variadas (Tabela 5). Os principais achados foram hepatite necrótica (8/25), hepatite fibrinonecrótica (4/25), hepatite fibrinosa e linfo-histioplasmocitária, associadas a agregados bacterianos (4/25) e hepatite heterofílica (4/25).

Em três (3/7) aves com estreptococose, macroscopicamente foram visualizadas no fígado áreas esbranquiçadas, e em uma ave (1/7) o fígado estava vermelho-escuro com áreas multifocais esverdeadas. Na histopatologia, observou-se peri-hepatite linfo-histioplasmocitária e heterofílica

(3/7), com proliferação de ductos biliares (2/7). Em duas (2/7) aves, havia hepatite necrótica e heterofílica e em outras duas (2/7) hepatite necrótica e heterofílica associada a peri-hepatite linfoplasmocitária e heterofílica.

Nas três (3/3) aves diagnosticadas com colibacilose, os fígados estavam aumentados de volume, avermelhados, havia deposição moderada a acentuada de material filментар, esbranquiçado e friável (fibrina) em superfície capsular (peri-hepatite fibrinosa), além de hiperemia da musculatura e de órgãos viscerais (Figura 6A-C). Em duas aves, também havia deposição de material filментар, esbranquiçado e friável (fibrina) em pericárdio (Figura 6A e 6B) e em uma ave, o mesmo material estava sobre a cavidade celomática (extremidade anterior) (Figura 6B). Nestes casos, a histopatologia hepática revelou um quadro de peri-hepatite fibrinosuprativa, com numerosos bastonetes intra-lesionais.

4.3.2.3. Exames auxiliares

Dez fígados (casos 18, 19, 20, 27, 28, 29, 30, 31, 32 e 33) foram coletados de forma asséptica para realização de exame bacteriológico, confirmando a infecção por *Escherichia coli* em três casos (18 a 20) e *Streptococcus gallolyticus* em sete casos (27 a 33).

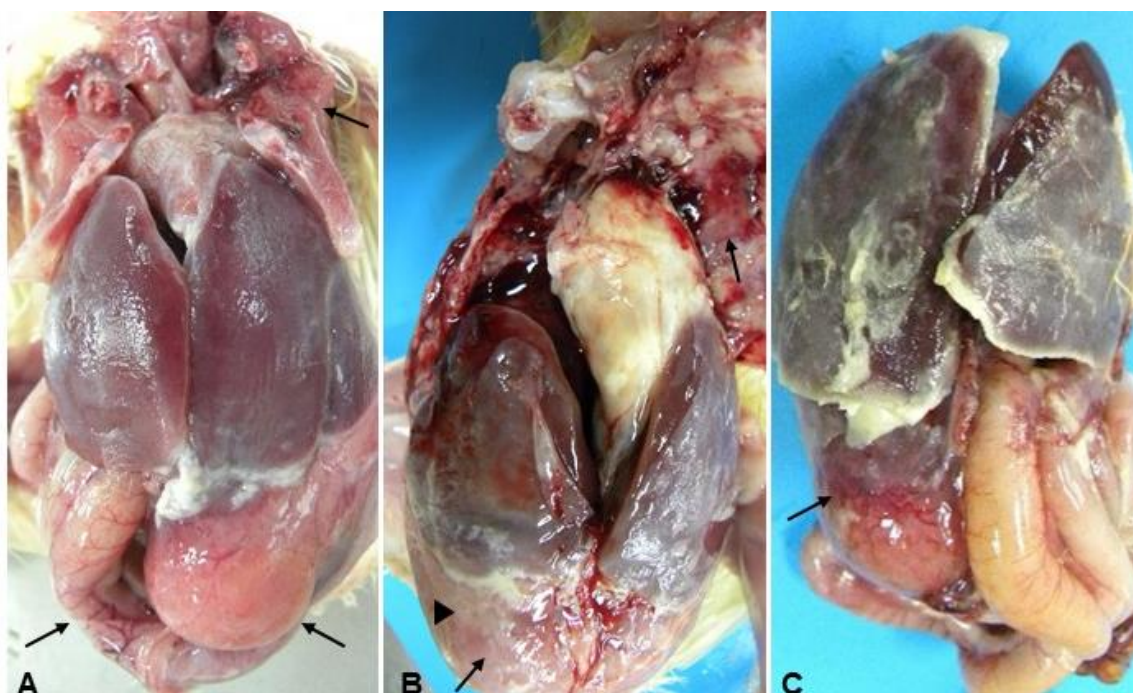


Figura 6. Alterações macroscópicas em frangos de corte (casos 18, 19 e 20), de 11 dias, naturalmente infectados por *Escherichia coli*. (A, B e C) Fígados moderadamente aumentados, difusamente e intensamente avermelhados, hiperemia da musculatura e de órgãos viscerais (seta) e deposição moderada a acentuada de material filментар, esbranquiçado e friável (fibrina) em superfície capsular dos lobos hepáticos. (A e B) Deposição moderada a acentuada de material

filamentar, esbranquiçado e friável (fibrina) em pericárdio. (B) Deposição moderada de material filamentar, esbranquiçado e friável (fibrina) em cavidade celomática (extremidade anterior) (cabeça de seta).

4.3.3. Alterações indicativas de causa tóxica

Alterações hepáticas relacionadas à causa tóxica foram encontradas em 19 frangos (casos 259 a 273, 282 a 285), com idades de seis a 42 dias.

4.3.3.1. Histórico clínico

Mortalidade elevada foi descrita em dez (10/19) casos, em dois (2/19) a taxa registrada foi de 1,2%. Estas aves pertenciam a quatro lotes diferentes, sendo que um destes lotes apresentou aumento de mortalidade logo após serem expostas a aplicação de inseticida a base de carbamato. Em quatro (4/19) casos havia desuniformidade nas aves do lote. Sinais clínicos respiratórios foram observados em seis (6/19) aves. Outros sinais observados foram movimentos de pedalagem dos membros pélvicos (2/19) e diminuição no consumo de ração (2/19).

4.3.3.2. Achados anátomo-histopatológicos

Na macroscopia, os fígados variaram de esbranquiçados (11/19), vermelho-pálidos (2/19) a amarelados (5/19). Na histopatologia, hepatócitos da região centrolobular e médio zonal estavam tumefeitos e com vacuolização intracitoplasmática de aspecto microvacuolar (2/19). Nas demais aves, os hepatócitos estavam com hipereosinofilia e os núcleos picnóticos e cariorréxicos, caracterizando necrose de coagulação (13/19). Em dois casos (2/19) observou-se proliferação de ductos. Congestão moderada foi observada em quatro (4/19) aves (casos 282 a 285).

4.3.4. Doenças virais

Lesões hepáticas associadas a vírus ocorreram em oito aves de corte de dois lotes de matrizes de corte de 21 dias. Destes casos, cinco (5/8) foram atribuídos a hepatite por corpúsculo de inclusão (HCI) (81 a 85). Os demais casos (86 a 88) ocorreram em aves de 13 dias, com lesões histológicas sugestivas de infecção viral; contudo o agente etiológico não foi confirmado por testes auxiliares.

4.3.4.1. Histórico clínico

As cinco (5/8) aves diagnosticadas com hepatite por corpúsculo de inclusão eram de dois lotes distintos (lote 1 e 2) de uma mesma granja de matrizes pesadas. Nos lotes 1 e 2 houve diminuição no desenvolvimento das aves, além de aumento na mortalidade de 1,2% e 4,5%, respectivamente. Nas outras três (3/8) aves, sinais clínicos envolvendo o sistema respiratório e apatia foram observados, assim como aumento na taxa de mortalidade (1,03%) nas aves aos dez dias de idade.

4.3.4.2. Achados anátomo-histopatológicos

Nas aves com HCI, os achados macroscópicos foram hepatomegalia e fígado difusamente amarelo-avermelhado, com petéquias multifocais (3/5) (Figura 7A). Além das alterações hepáticas, havia hidropericárdio, atrofia de bursa e timo, medula óssea femoral amarelada e palidez de mucosa e conjuntiva. Na histopatologia hepática das cinco (5/5) aves, havia áreas com infiltrado linfo-histioplasmocitário e raros heterófilos, associados a áreas multifocais aleatórias com degeneração hepatocelular, além de áreas com hepatócitos diminuídos, hipereosinofílicos e com núcleos condensados ou fragmentados, preservando-se o arcação celular (necrose de coagulação) e ocasionalmente com áreas de perda de hepatócitos e substituição por restos celulares e material amorfo eosinofílico (necrose lítica) (Figura 7B). Associada a lesão, havia numerosos hepatócitos com inclusões basofílicas intranucleares preenchendo todo o núcleo e deslocando a cromatina para periferia (Figura 7C). Inclusões eosinofílicas envoltas por halo claro também foram observadas em alguns hepatócitos (Figura 7D).

Nas três aves com alterações histopatológicas sugestivas de infecção viral, macroscopicamente, um (1/3) dos fígados estava amarelado e intercalado por áreas multifocais a coalescentes vermelho-escuras no parênquima. A histopatologia revelou hepatite necro-hemorrágica e linfocitária (3/3).

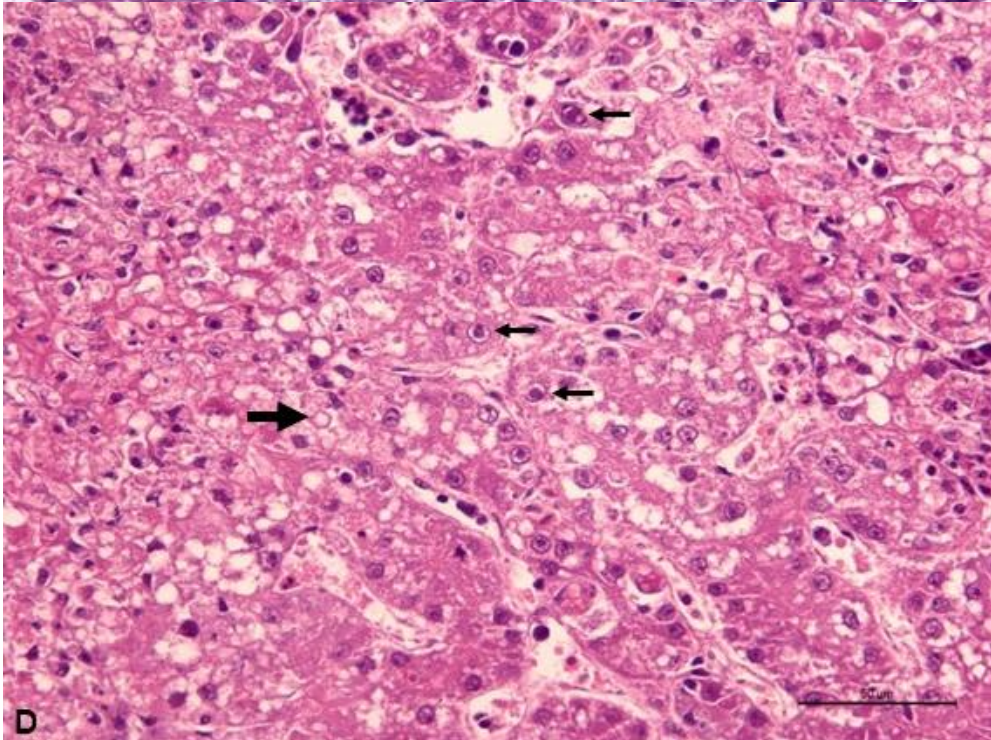
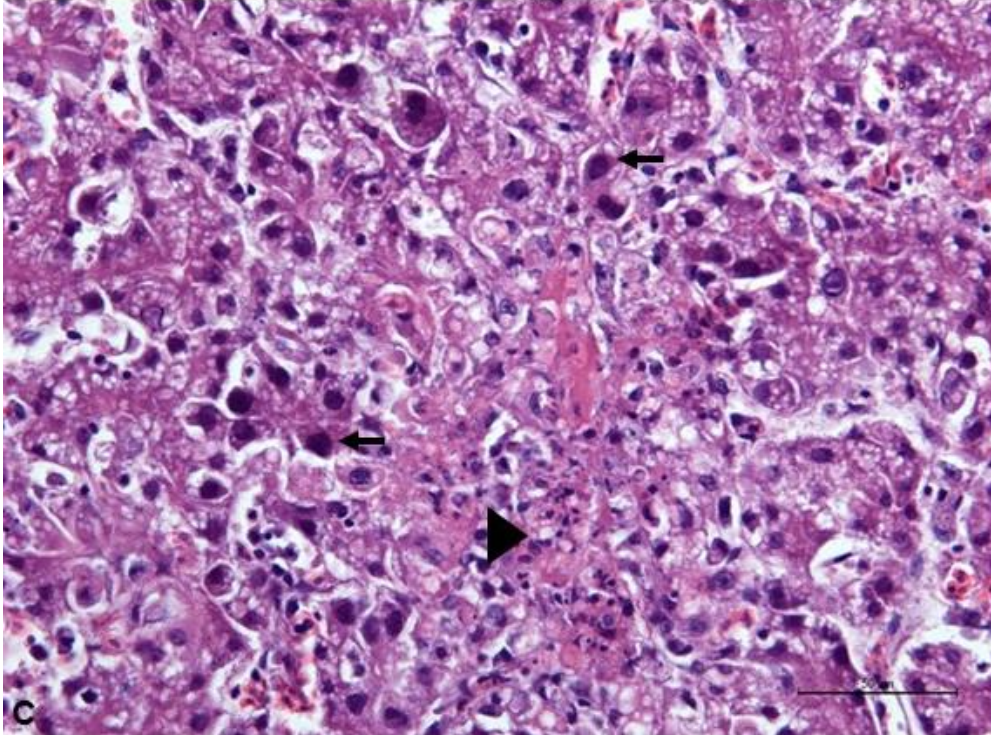
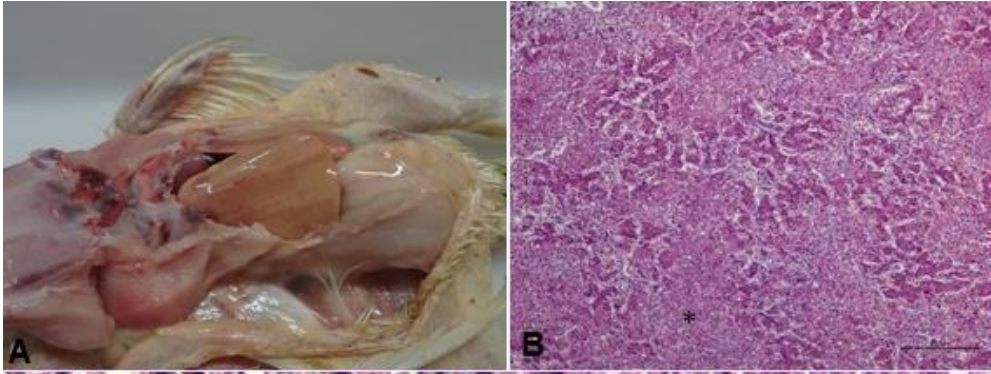


Figura 7. Achados anátomo-histopatológicos em matriz pesada (caso 81), de 21 dias, com hepatite por corpúsculo de inclusão. (A)* Fígado moderadamente aumentado e difusamente amarelado, com áreas avermelhadas e petéquias multifocais. (B) Perda da arquitetura hepática, caracterizada por extensas áreas de necrose multifocais a coalescentes aleatória (*). Barra: 200 µm. (C) Perda de hepatócitos, substituídos por restos celulares e material amorfo e eosinofílico (cabeça de seta). Hepatócitos remanescentes com inclusões basofílicas intranucleares, preenchendo todo o núcleo e deslocando a cromatina para periferia (seta fina). Barra: 50µm. (D) Em alguns hepatócitos há inclusões eosinofílicas intranucleares, com halo claro (seta fina), outros estão tumefeitos, com vacúolos intracitoplasmáticos de contornos indistintos (degeneração vacuolar) (seta espessa). Barra: 200µm. Hematoxilina e eosina (HE). * Cortesia do professor Nelson R.S.Martins.

4.3.4.3.Exames auxiliares

Para confirmação do diagnóstico, foi realizada a extração do DNA utilizando fragmentos do fígado, baço e timo das cinco aves (casos 81 a 85). O DNA total foi submetido à PCR convencional para detecção do gene hexon do Aviadenovirus. Três amostras tiveram resultados positivos, e os produtos da PCR foram purificados e posteriormente submetidos ao sequenciamento, originando sequências idênticas às estirpes do Aviadenovirus E (sorotipo 8). Mediante aos sinais clínicos e achados anátomo-histopatológicos, suspeitou-se de coinfeção pelo vírus da anemia infecciosa das galinhas, a qual foi confirmada pelo nested PCR.

4.4. Galinha de postura

Das 94 galinhas de postura incluídas neste estudo, nove apresentaram dois diagnósticos, assim compreendendo 103 diagnósticos etiológicos. Nestas aves, as doenças bacterianas foram as mais frequentes, seguido por doenças metabólicas, degenerativas, tóxicas e por fim distúrbios circulatórios e neoplásicos (Figura 8). A idade destas aves variou de quatro dias a 109 semanas.

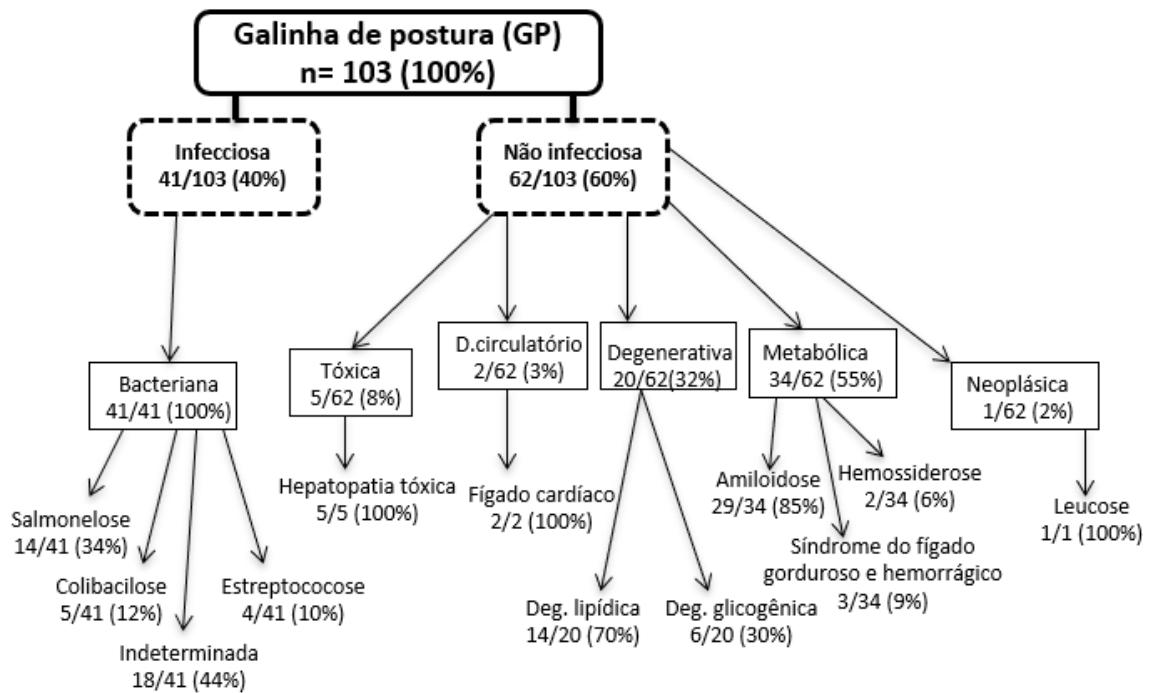


Figura 8. Distribuição dos diagnósticos de alterações hepáticas em galinhas de postura, quanto à etiologia infecciosa e não infecciosa.

4.4.1. Doenças bacterianas

Neste estudo, as hepatites bacterianas ocorreram em 41 poedeiras, tendo como agente etiológico a *Salmonella enterica* em 14 (14/39) aves, com idade de oito semanas (casos 1 a 6), 39 semanas (casos 14 a 17) e 77 semanas (casos 7 a 10). Em cinco (5/39) casos, em aves de nove dias (21 a 25), o agente bacteriano envolvido foi a *Escherichia coli*. Em quatro (4/38) casos (34 a 37), em aves de 91 semanas, foi identificada bactérias *Streptococcus gallinarum*. Nos outros 18 (16/39) casos (63 a 77, 280, 281 e 299) não foi possível definir o agente etiológico envolvido, e a idade destas aves variou de quatro dias a 109 semanas.

4.4.1.1. Histórico clínico

Em todos (14/14) os lotes diagnosticados com salmonelose, houve aumento de mortalidade, variando de 5 a 10% (casos 1 a 6) em alguns lotes de granjas a até 80% (casos 7 a 10) em outras granjas. Em seis (6/14) casos, observou-se queda na produção de ovos e em quatro (4/14), as aves estavam apáticas. Aumento de mortalidade também foi descrito em lotes com colibacilose (5/5), com taxa de 2,5%, além de quadros de diarreia, apatia e dispneia. Em aves diagnosticadas com hepatite bacteriana, onde não foi possível determinar o agente etiológico

envolvido, também havia aumento de mortalidade (5/18), além de emaciação (3/18) e apatia (1/18).

4.4.1.2. Achados anátomo-histopatológicos

Na macroscopia, os fígados diagnosticados com salmonelose estavam aumentados de volume (14/14), variando de vermelho-escuro (11/14) (Figura 9A e 9B) a esverdeados (3/14) (Figura 9C e 9D). Em 12 (12/14) casos havia esplenomegalia (Figura 9E) e em um caso (1/14), no epicárdio e miocárdio haviam áreas multifocais elevadas (Figura 9F). Na histopatologia, havia áreas multifocais aleatórias de hepatócitos com citoplasma intensamente eosinofílico e núcleos picnóticos (necrose), associadas com infiltrado inflamatório heterofílico (10/14) e histiocitário (4/14), além de deposição de intensa quantidade de fibrina na parede dos sinusoides ou entre os hepatócitos (Figura 10A-B).

Macroscopicamente, em galinhas poedeiras com colibacilose havia peri-hepatite fibrinosa (4/5) (Figura 11A) e pericardite fibrinosa (3/5) (Figura 11A e 11B), além de hepatomegalia e áreas amareladas entremeadas por áreas avermelhadas (1/5). Na histopatologia observou-se peri-hepatite fibrinosa com microtrombos (5/5) (Figura 11C) e esplenite fibrinonecrótica (1/5) (Figura 11D).

Nos casos de estreptococose, macroscopicamente, as lesões foram caracterizadas por fígados acentuadamente aumentados de volume (4/4), amarelados (2/4), com áreas milimétricas esbranquiçadas multifocais a coalescentes entremeadas por áreas vermelho-escuras (3/4), padrão lobular evidente (2/4), além de material fibrilar esbranquiçado em superfície hepática de uma ave (1/4). O exame histopatológico revelou perda da arquitetura tecidual, caracterizadas por hepatócitos desorganizados, com citoplasma denso, eosinofílico e núcleo picnótico ou ausente (cariólise). Havia deposição de fibrina (2/4), além de infiltrado inflamatório heterofílico e linfo-histioplasmocitário, predominantemente em região periportal. Aderidas ao epitélio dos ductos biliares havia agregado de cocos intralesionais, caracterizando um quadro de colangio-hepatite linfo-histioplasmocitária e heterofílica (2/4) com bactérias cocoides (2/4).

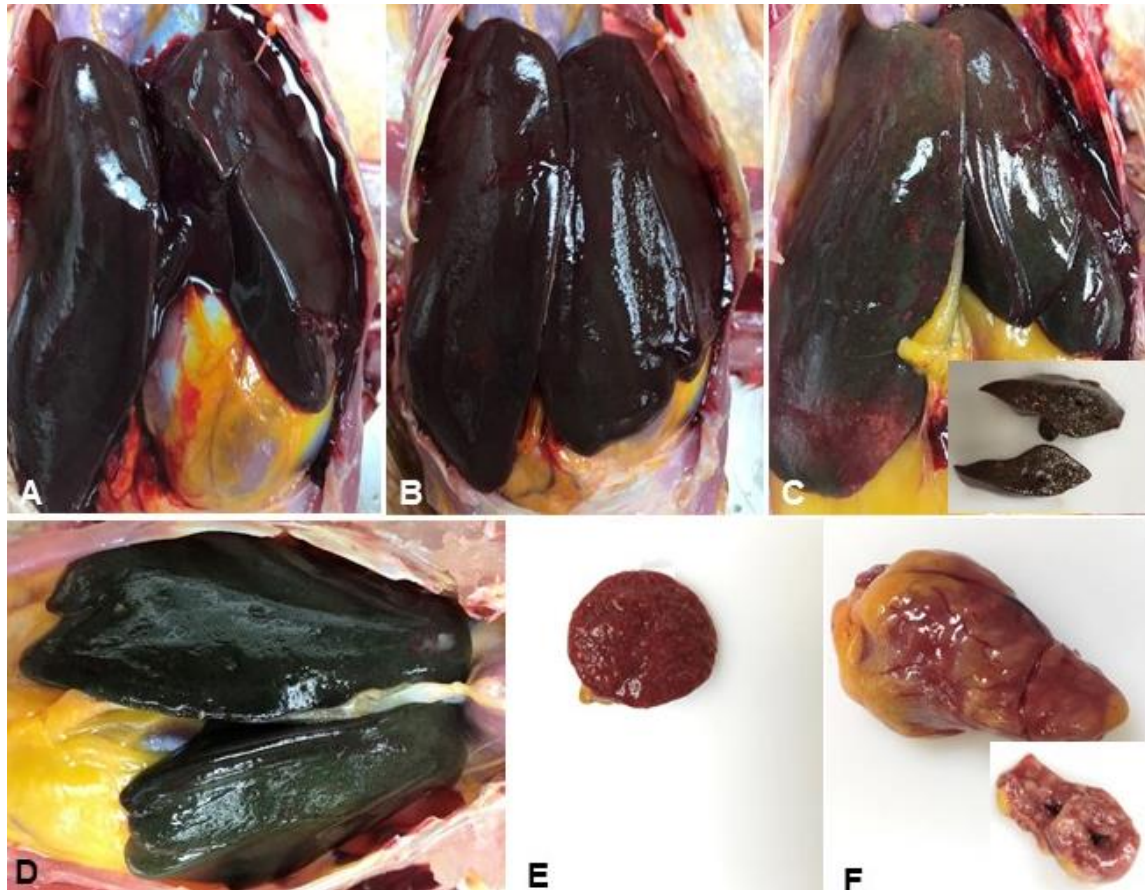


Figura 9. Alterações macroscópicas em galinhas de postura (casos 7 a 10) de 77 semanas, naturalmente infectadas por *Salmonella Gallinarum*. (A) Fígado intensamente aumentado, difusamente e acentuadamente vermelho-escuro. (B) Fígado intensamente aumentado, com bordos abaulados, difusamente e acentuadamente vermelho-escuro, com áreas multifocais amareladas. (C) Fígado intensamente aumentado, com bordos abaulados, moderadamente esverdeado, com áreas multifocais amareladas e avermelhadas. *Inset*: fígado ao corte transversal, com parênquima moderadamente esverdeado. (D) Fígado intensamente aumentado, com bordos abaulados, difusamente verde-escuro. (E) Baço ao corte transversal, acentuadamente aumentado e difusamente avermelhado, com pontos multifocais esbranquiçados. (F) Coração com superfície irregular, com áreas multifocais milimétricas, moderadamente elevadas em epicárdio e miocárdio. *Inset*: coração ao corte transversal, com áreas multifocais milimétricas, moderadamente elevadas em epicárdio, miocárdio e endocárdio.

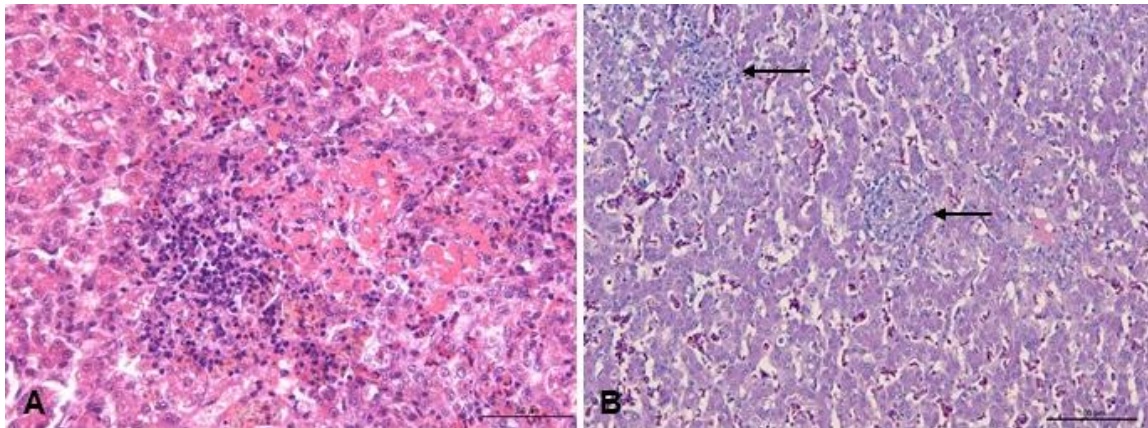


Figura 10. Achados histopatológicos em galinhas de postura (caso 1 e 7), de 8 e 77 semanas, naturalmente infectadas por *Salmonella Gallinarum*. Fígado. (A) Área focal de necrose fibrinoide associada a infiltrado linfocitário e heterofílico. Barra: 50 μ m. (B) Áreas multifocais aleatórias com perda de hepatócitos e substituição por material amorfo eosinofílico (necrose), circundados por macrófagos, raros heterófilos e material fibrilar eosinofílico (fibrina), caracterizando nódulos paratífoides multifocais (seta). Barra 100 μ m. Hematoxilina e eosina.

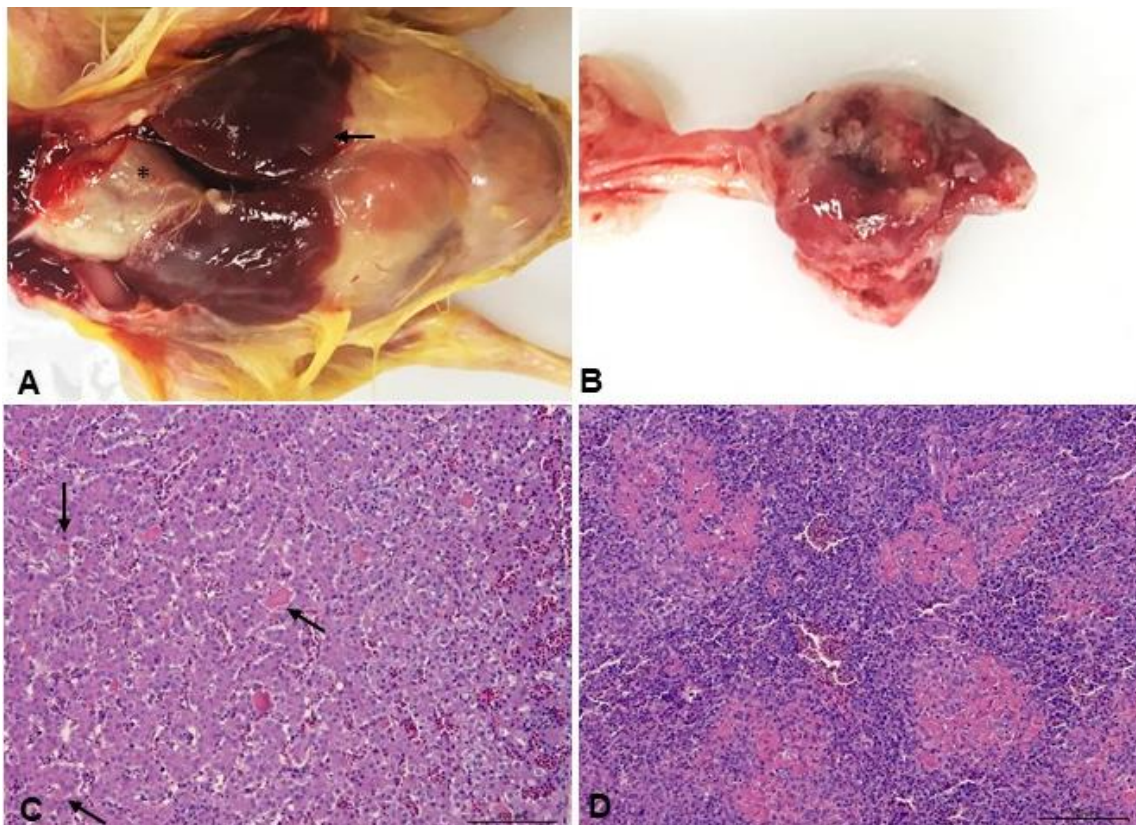


Figura 11. Achados anátomo-histopatológicos em galinhas de postura, “pintainhas” (casos 21 e 22), de 9 dias, naturalmente infectadas por *Escherichia coli*. (A) Deposição moderada a acentuada de material filamental, esbranquiçado e friável (fibrina) em pericárdio (*) e em superfície capsular dos lobos hepáticos (seta). (B) Pericárdio difusamente hiperêmico, com deposição moderada de material filamental, esbranquiçado e friável (fibrina). (C) Nos sinusoides há áreas com deposição

de fibrina e formação de microtrombos multifocais moderado, associado a hiperemia moderada (seta). Barra: 100µm. (D) Em região elipsoide há deposição de quantidade acentuada de material filamentar e intensamente eosinofílico (fibrina), associado à necrose moderada de células reticulares e perda de capilares peniciliformes. Barra: 100µm. Hematoxilina eosina (HE).

Nos casos onde não foi possível definir o agente bacteriano envolvido, as lesões macroscópicas e histopatológicas foram consideradas compatíveis com hepatite bacteriana. Os principais achados foram hepatomegalia (5/18), fígados variando de avermelhados (5/18), esverdeados (2/18) a intensamente amarelados (2/18), com pontos multifocais esbranquiçados (Figura 12A) e avermelhados (Figura 12B). Na histopatologia, os casos de hepatite fibrinonecrótica e heterofílica multifocais aleatórias foram os mais frequentes (7/18) (Tabela 5).

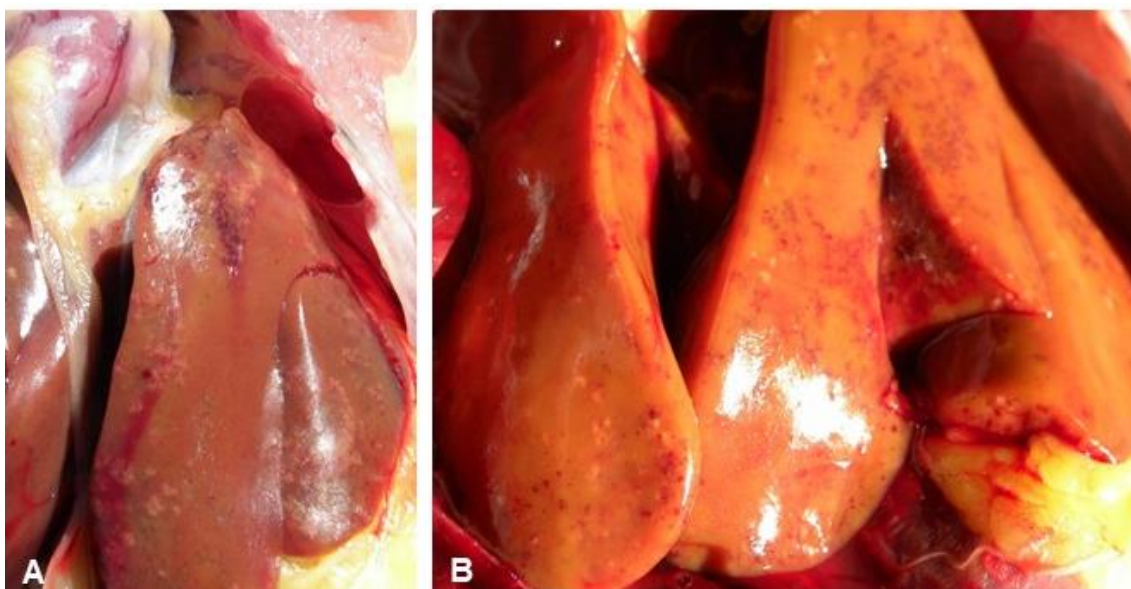


Figura 12. Alterações macroscópicas em galinhas de postura (casos 299 e 71) de 46 semanas e 109 semanas. (A) Fígado difusamente aumentado, com bordos abaulados, moderadamente amarelado, com pontos subcapsulares esbranquiçados multifocais. (B) Fígado difusamente aumentado, com bordos abaulados, intensamente amarelado, com pontos subcapsulares avermelhados multifocais, que se aprofundam ao corte.

4.4.1.3.Exames auxiliares

Fígados de 23 aves foram coletados de forma asséptica para realização de exame bacteriológico, confirmando a infecção para *Salmonella* spp. em 14 casos (1 a 10, 14 a 17), para *E. coli* em cinco casos (21 a 25) e para *Streptococcus gallinarum* em quatro casos (34 a 37). Após

o isolamento, as colônias de *Salmonella* spp. de dez casos (1 a 10) foram encaminhadas para sorotipificação. O resultado confirmou *Salmonella* Gallinarum.

4.4.2. Doenças metabólicas

Neste estudo, 34 galinhas de postura foram diagnosticadas com doenças metabólicas, sendo 29 (29/34) casos de amiloidose. Destas aves com amiloidose, quatro tinham 8 semanas de idade (casos 218 a 221), doze aves tinham 12 semanas (casos 226 a 237), sete aves 16 semanas (casos 238 a 244) e seis aves com idade indeterminada (216, 217, 222 a 224). Além disso, foram diagnosticados três (3/34) casos de síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico em aves de 46 semanas (caso 293, 294, 295) e dois (2/34) casos de hemossiderose (248 e 249) em poedeiras de 17 semanas.

4.4.2.1. Histórico clínico

Dos diagnósticos de amiloidose, 19 (19/29) casos (226 a 244) são de um surto em poedeiras de uma mesma granja, as quais foram vacinadas contra Marek, boubá, gumboro, bronquite infecciosa, Newcastle, micoplasmose, pneumovirose, laringotraqueite infecciosa (vacina viva atenuada tipo TCO), além de salmonelose e coriza infecciosa com aplicação intramuscular. Neste caso, as aves apresentaram apatia, queda na produção de ovos e aumento de mortalidade, variando de 0,5% a 4%. Em oito (8/29) casos (217 a 225) as aves apresentavam sinais clínicos com envolvimento do sistema respiratório. A ave do caso 217 apresentava histórico de salpingite. As três aves diagnosticadas com síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico, de 46 semanas, pertenciam ao mesmo lote de aves anteriormente acometidas por um surto de amiloidose (casos 226 a 244). Nos dois casos de hemossiderose (248 e 249) foram relatados quadros de apatia, associada a penas arrepiadas.

4.4.2.2. Achados anátomo-histopatológicos

Os principais achados macroscópicos nos casos de amiloidose foram hepatomegalia (8/29), fígados variando de avermelhados a amarelo-pálidos (8/29) e atrofia moderada de músculo peitoral (6/29) (Figura 13A). Ao corte, no parênquima hepático havia áreas multifocais a coalescentes variando de esbranquiçadas (Figura 13B) a avermelhadas. Entre as fâscias dos músculos peitorais do lado esquerdo havia pontos milimétricos avermelhados multifocais (1/29) e material branco/amarelado e opaco (7/29) (Figura 13C). Esplenomegalia foi observada em doze (12/29) casos (Figura 13D),



Figura 13. Alterações macroscópicas em galinhas de postura de 16 e 12 semanas, com amiloidose AA sistêmica. Galinhas 239 a 244. (A) Lobos hepáticos intensamente aumentados, friáveis, variando de amarelados a vermelhos-escuros. Atrofia moderada de músculo peitoral (seta), com evidência da quilha. (B) Corte transversal de fígado. Aprofundando ao parênquima há pontos milimétricos esbranquiçados multifocais a coalescentes. (C) Material branco/amarelado e opaco em quantidade discreta entre as fâscias dos músculos peitorais do lado esquerdo. Galinha 226. (D) Baço intensamente aumentado.

Na histopatologia, observou-se necrose hepática multifocal aleatória acentuada (12/29). Havia deposição de material amorfo, eosinofílico e homogêneo no fígado, mais especificamente entre os cordões de hepatócitos, no espaço de Disse (29/29) (Figura 14A e 14B) e na túnica média dos vasos do baço (4/29) (Figura 14C). Além destes achados, havia entre as fibras musculares e no espaço perivascular infiltrado linfoplasmocitário, associado a perda e fragmentação de miócitos e imagens negativas circulares e bem delimitadas compatíveis com veículo vacinal (Figura 14D).

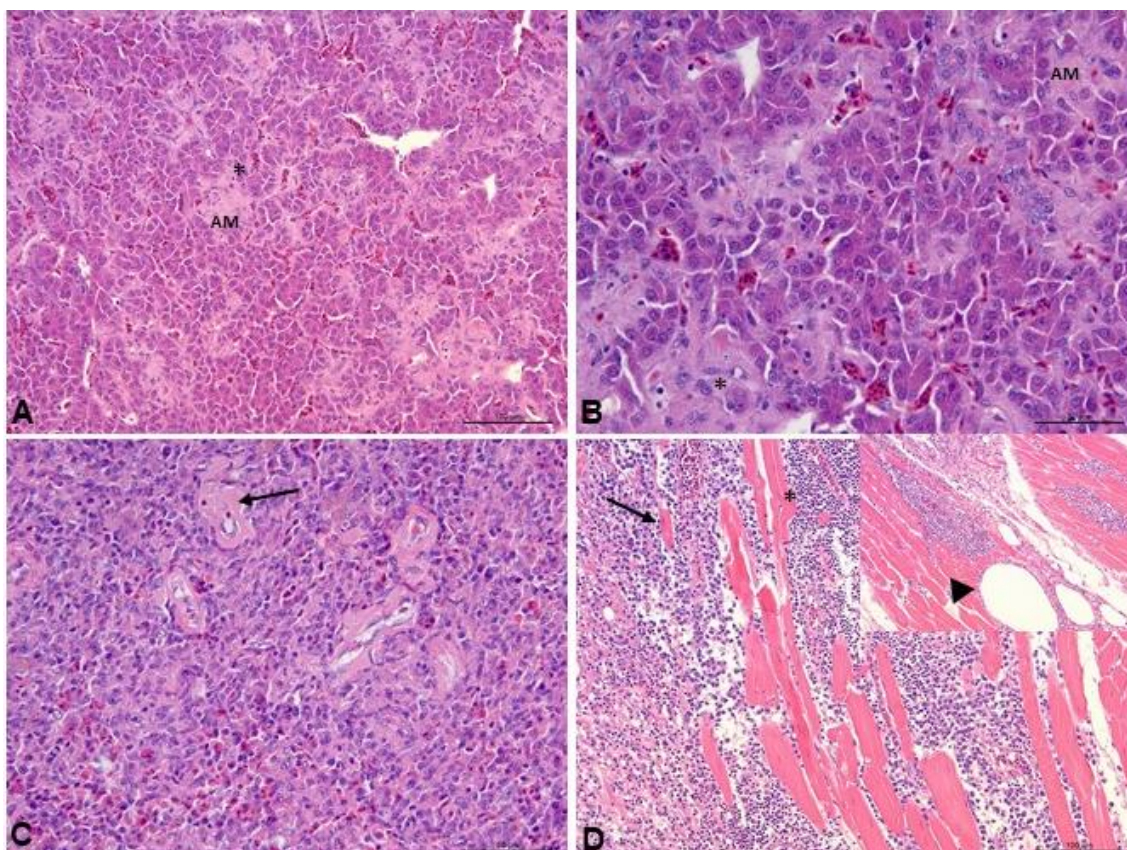


Figura 14. Alterações histológicas em fígado, baço e músculo de galinha de postura, de 12 e 16 semanas com amiloidose AA sistêmica. Galinha 226. (A e B) Deposição de material amorfo, eosinofílico e homogêneo, compatível com amiloide (AM), no espaço de Disse, levando a perda e compressão de hepatócitos adjacentes (*), multifocal moderado. Barra: 100 μ m e 50 μ m. (C) Na túnica média dos vasos do baço há acentuada deposição de material amorfo, eosinofílico e homogêneo, compatível com amiloide (seta). Barra: 50 μ m. Galinha 240. (D) Entre as fibras musculares e no espaço perivascular há infiltrado linfoplasmocitário multifocal acentuado, com perda e fragmentação de miócitos (seta). As fibras musculares remanescentes estão delgadas, com encurtamento do sarcolema e de aspecto tortuoso (atrofia) (*). *Inset*: imagens negativas circulares e bem delimitadas (cabeça de seta) compatíveis com veículo vacinal. Barra: 100 μ m. Hematoxilina eosina (HE).

Nos três (3/3) casos de síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico, os fígados estavam intensamente amarelados, com áreas multifocais avermelhadas, subcapsulares e de aspecto untuoso (Figura 15A). Nestes casos, a histopatologia revelou numerosos hepatócitos com vacúolos intracitoplasmáticos únicos, em sua maioria, bem delimitados, com núcleo deslocado para a periferia (Figura 15B). Associado a estas lesões, havia áreas multifocais de hemorragia (3/3) (Figura 15C e 15 D). Nos dois casos diagnosticados com hemossiderose, os fígados estavam intensamente diminuídos de volume (2/2) com áreas esbranquiçadas subcapsulares e no parênquima (1/2) e com nódulos milimétricos amarelados multifocais (1/2). A vesícula biliar estava dilatada e repleta de bile (2/2). Na histopatologia destas aves, observou-se hemossiderose (doença do armazenamento do ferro) multifocal (2/2).

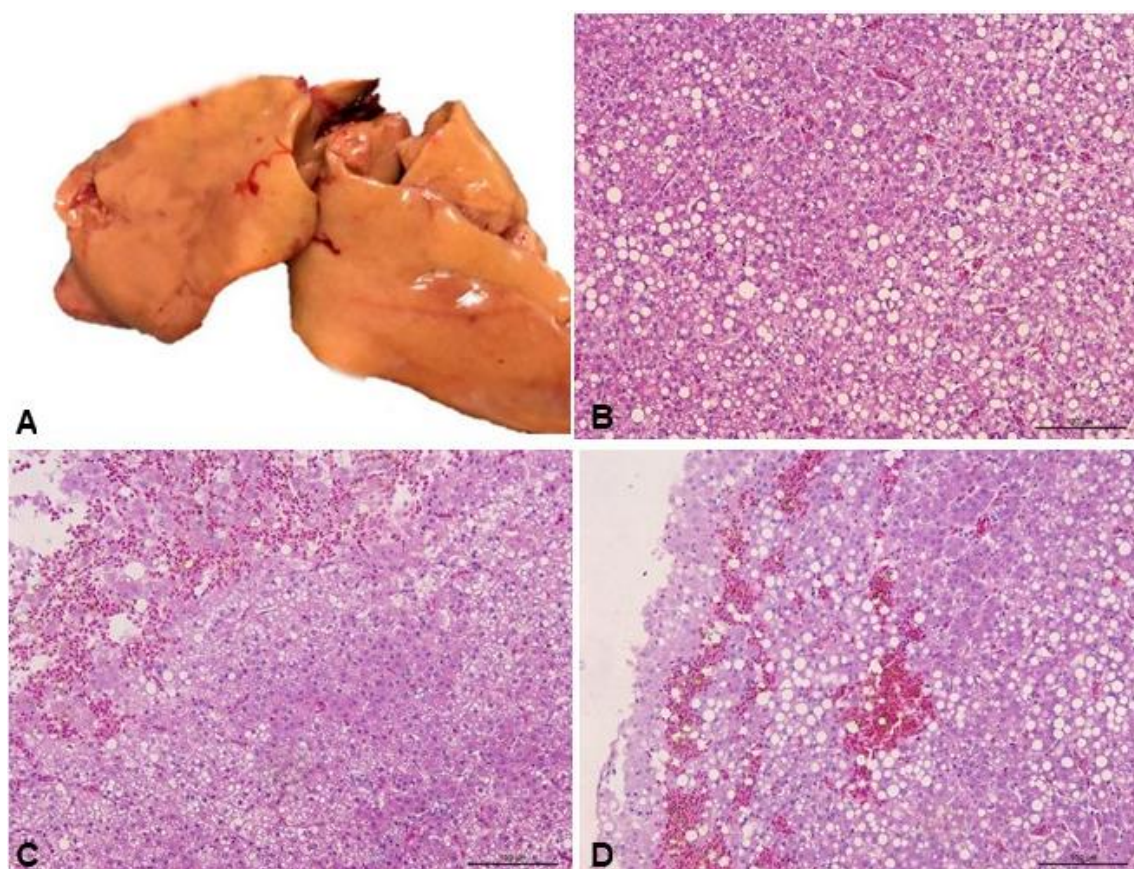


Figura 15. Achados anátomo-histopatológicos em galinha de postura (Caso 293), de 46 semanas, com síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico. (A) Fígado intensamente e difusamente aumentado, com bordos abaulados, acentuadamente amarelado, com áreas avermelhadas subcapsulares. (B) Perda da arquitetura hepática, caracterizada por numerosos hepatócitos com vacúolos (predominantemente macrovacúolos) intracitoplasmáticos únicos, em sua maioria, bem delimitados, com núcleo deslocado para a periferia. Barra: 100 μ m. (C) Em região subcapsular há áreas multifocais com hemácias em espaço extravascular, caracterizando hemorragia multifocal.

Barra:100µm. (D) Adjacente a hepatócitos com vacúolos intracitoplasmáticos, há áreas multifocais de hemorragia. Barra: 100µm. Hematoxilina e eosina (HE).

4.4.2.3. Exames auxiliares

Para confirmação do diagnóstico de amiloidose, foi realizada a coloração de vermelho congo. Nas 29 aves descritas acima, foram selecionados os fígados para a coloração de vermelho congo, além de alguns baços e músculos peitorais de alguns casos. Em todos os fígados (Figura 16A e 16B), baços (Figura 16C) e músculos (Figura 16D) avaliados visualizou-se em luz polarizada a coloração verde brilhante, considerada positiva para amiloide, confirmando assim o diagnóstico. Secções de fígados de sete aves (casos 226 a 232) também foram examinados por microscopia eletrônica. Nestes casos, observou-se deposição e agregação de fibrilas amiloides não ramificadas, medindo de 7,0 a 11,0 nm, na parede dos sinusoides e espaço de Disse, comprimindo hepatócitos adjacentes (Figura 17A e 17B). Fígados dos casos 238 a 244 foram coletados de forma asséptica para realização de exame bacteriológico, contudo não houve crescimento bacteriano para *Salmonella enterica* ou para *E. coli*.

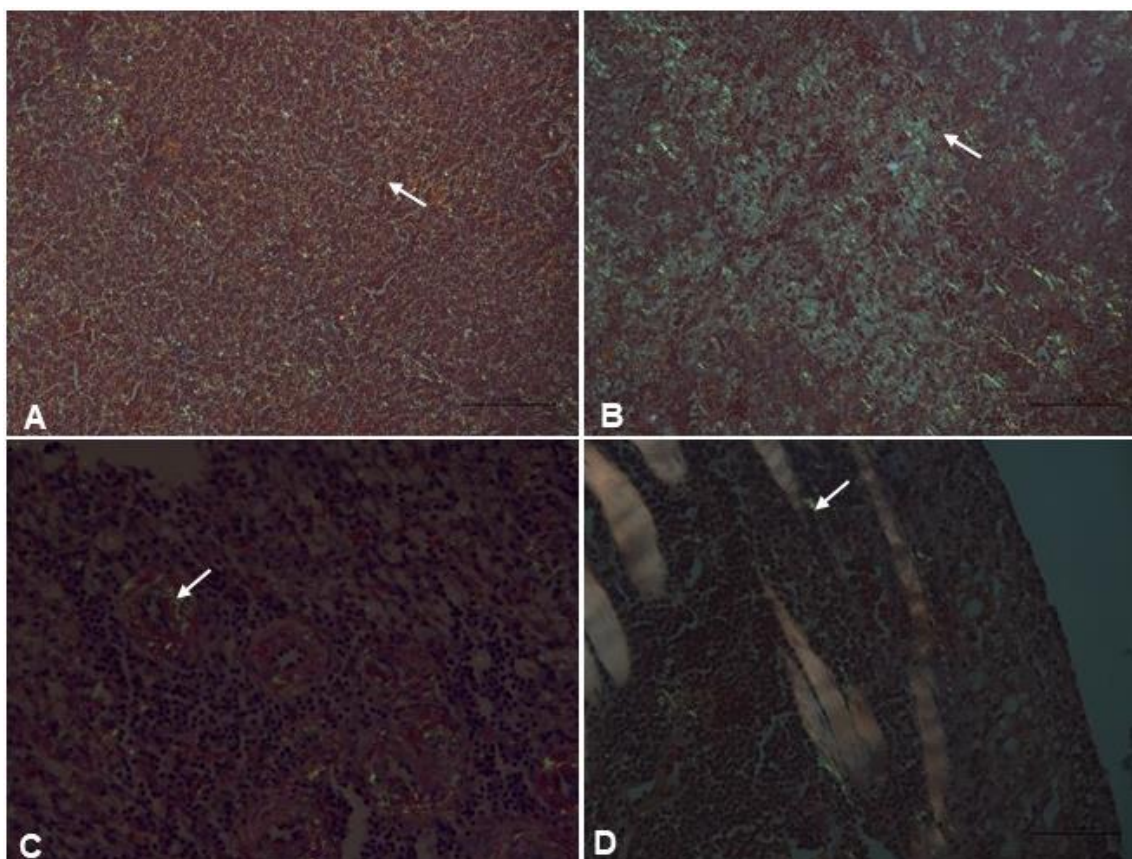


Figura 16. Alterações histoquímicas em galinha de postura de 12 e 16 semanas, com amiloidose AA sistêmica. Birrefringência verde-maçã (seta) na luz polarizada, evidenciando deposição de

amiloide. Galinha 226. (A) Fígado. Barra: 200µm. (B) Fígado. Barra: 100µm. (C) Túnica média dos vasos do baço. Obj.40. Galinha 240. (D) Associada a miosite. Barra: 50µm. Vermelho congo (VC).

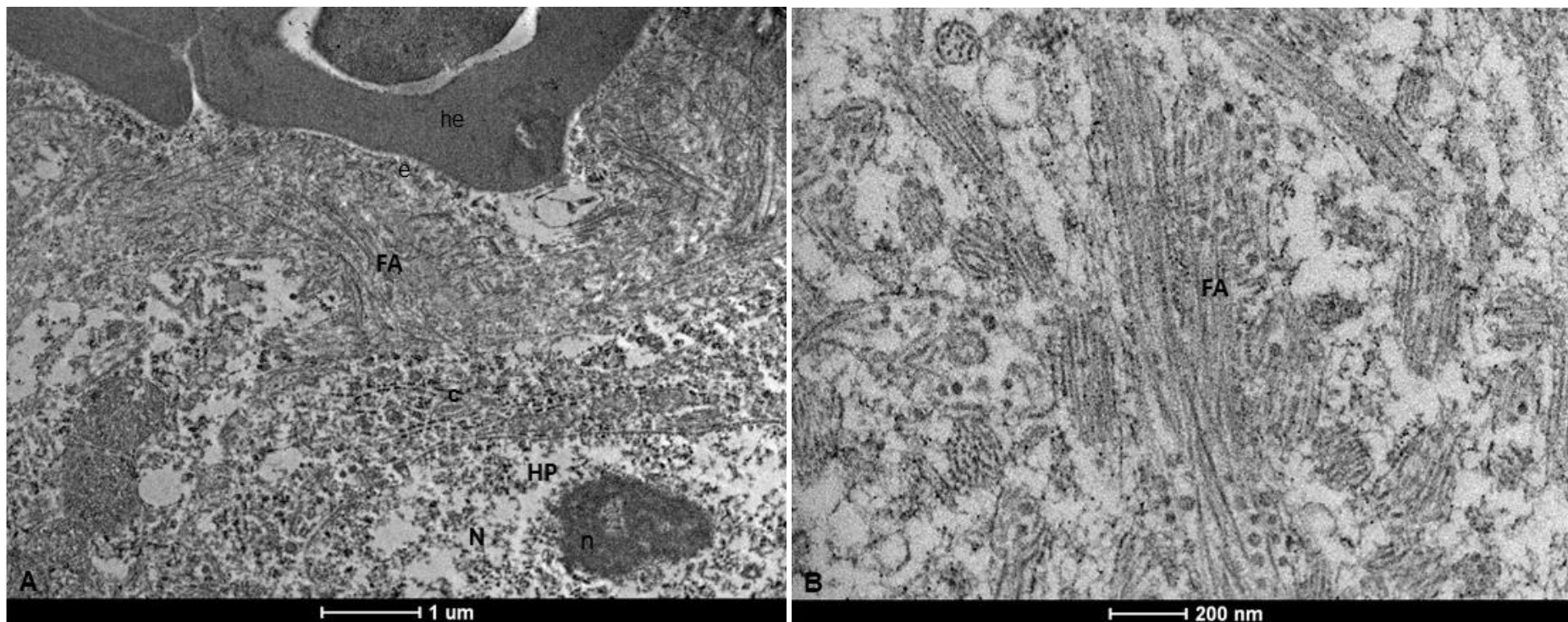


Figura 17. Galinha de postura, 12 semanas (Caso 226), com amiloidose AA sistêmica. (A e B) Deposição e agregação de fibrilas amiloides (FA) não ramificadas, medindo de 7,0 a 11,0 nm, na parede dos sinusoides e espaço de Disse, comprimindo hepatócitos (HP) adjacentes. Hemácia (he); citoplasma do endotélio (e); citoplasma do hepatócito (c); núcleo do hepatócito (N); nucléolo do hepatócito (n). Microscopia eletrônica de transmissão (ME).

4.4.3. Alterações degenerativas

Alterações degenerativas foram diagnosticadas em 20 poedeiras. Destas, 14 (14/20) foram definidas como degeneração lipídica, ocorrendo em aves de uma semana (casos 161 a 163), 46 semanas (casos 296 a 298, 300), 86 semanas (casos 156 a 160) e 109 semanas (caso 164 e 165). As demais (6/20) foram diagnosticadas como degeneração glicogênica e ocorreram em aves de 30 semanas (casos 208 a 212) e 109 semanas (caso 213).

4.4.3.1. Histórico clínico

Em cinco aves (casos 156 a 160) com lipidose, relatou-se aumento do número de ovos descartados. Três aves diagnosticadas com lipidose (casos 296 a 298), pertenciam ao mesmo lote de aves anteriormente acometidas por um surto de amiloidose (casos 226 a 244). Redução na qualidade e quantidade de ovos produzidos, além de aumento de mortalidade foram relatados em aves (casos 208 a 212) com degeneração glicogênica.

4.4.3.2. Achados anátomo-histopatológicos

Apenas em três (3/14) casos (156, 157, 165) de lipidose havia hepatomegalia. Nestes casos, os fígados estavam difusamente amarelados, de aspecto untuoso, havendo grande quantidade de tecido adiposo sobre as vísceras (Figura 18A e 18 B). Nos demais casos de lipidose, em quatro (casos 226 a 244) o fígado estava intensamente amarelado. Em um caso (165) a ave foi diagnosticada com degeneração glicogênica concomitante. Neste caso, a histopatologia revelou numerosos hepatócitos com vacúolos intracitoplasmáticos bem delimitados e com núcleo deslocado para a periferia, alguns contendo vacúolos intracitoplasmáticos pouco definidos. Nas aves com lipidose, hepatócitos continham vacúolos intracitoplasmáticos únicos e vários com múltiplos microvacúolos bem delimitados, com núcleo deslocado para a periferia (14/14). Nos casos de degeneração glicogênica, microscopicamente, os hepatócitos estavam aumentados de volume, contendo vacúolos intracitoplasmáticos com contornos pouco definidos (6/6).

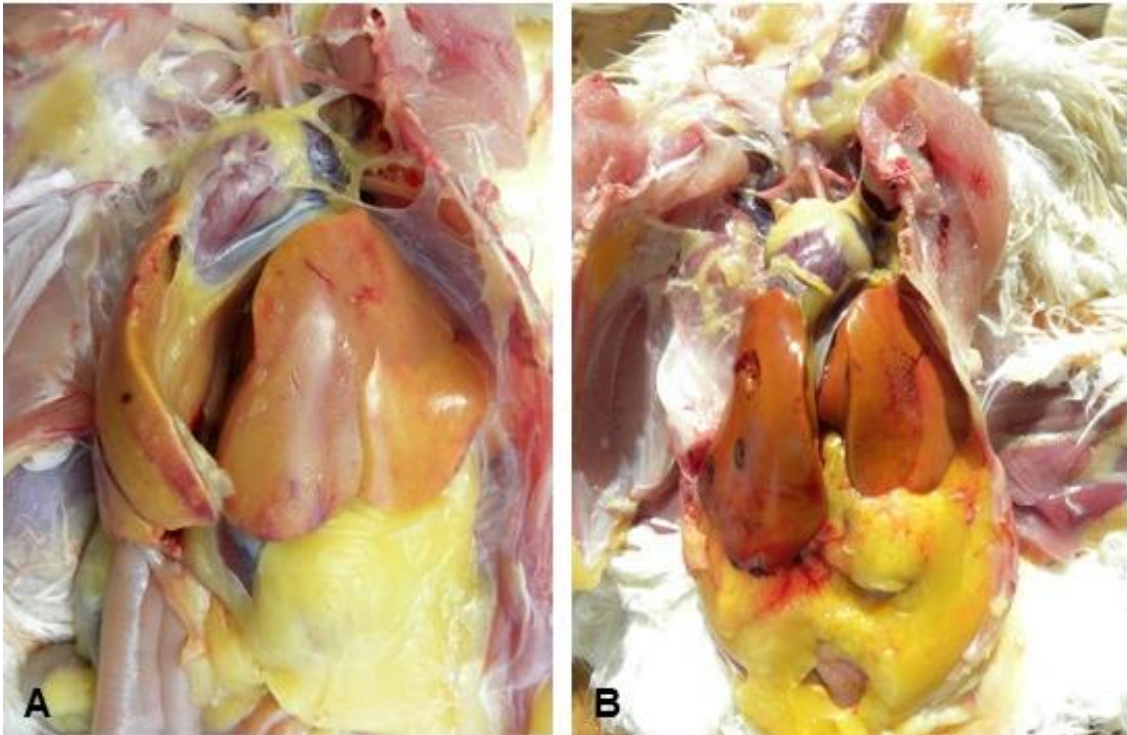


Figura 18. Alterações macroscópicas em galinhas de postura (casos 156 e 157) de 86 semanas com lipidose hepática. (A e B) Fígados difusamente aumentados, com bordos abaulados, acentuadamente amarelados, com áreas avermelhadas multifocais subcapsulares. Há moderada a acentuada quantidade de tecido adiposo sobre as vísceras.

4.4.4. Alterações indicativas de causa tóxica

Alterações hepáticas relacionadas à causa tóxica ocorreram em cinco aves (casos 274 a 278) de 17 semanas. Nestas aves as lesões eram de caráter crônico.

4.4.4.1. Histórico clínico

Estas aves eram de uma mesma propriedade, viviam em ambiente com manejo inadequado e apresentavam sinais de apatia e penas arrepiadas, com a morte ocorrendo um a dois dias após estas manifestações.

4.4.4.2. Achados anátomo-histopatológicos

Na macroscopia, nos cinco (5/5) casos, o saco pericárdio estava intensamente dilatado, preenchido por conteúdo líquido (Figura 19A), os fígados estavam intensamente diminuídos de

volume e firmes, acastanhados, na cápsula havia áreas multifocais esbranquiçadas e espessas (Figura 19A e 19B), as vesículas biliares estavam dilatadas (Figura 19C). Os achados histopatológicos foram caracterizados por quantidade acentuada de hepatócitos tumefeitos, com vacúolos intracitoplasmáticos pobremente delimitados e de núcleos com cariomegalia, predominantemente em região centrolobular e mediozonal. Além disso, havia hiperplasia dos ductos biliares, hemossiderose e leve fibroplasia (Figura 19D e 19E). A deposição intensa de ferro, associada a perda multifocal de hepatócitos e fibroplasia moderada possibilitou o diagnóstico de doença do armazenamento de ferro nessas aves.

4.4.4.3. Exames auxiliares

Os fígados de dois casos (274 e 275), selecionados para a coloração de azul da Prússia e tricrômico de Masson, revelaram marcação azul intracitoplasmática em hepatócitos (Figura 19F) e em fibras de colágeno (Figura 19G) no parênquima hepático, confirmando assim o diagnóstico de hemossiderose e fibrose hepática, respectivamente. Também foram submetidos a análise toxicológica para micotoxinas, havendo resultado negativo.

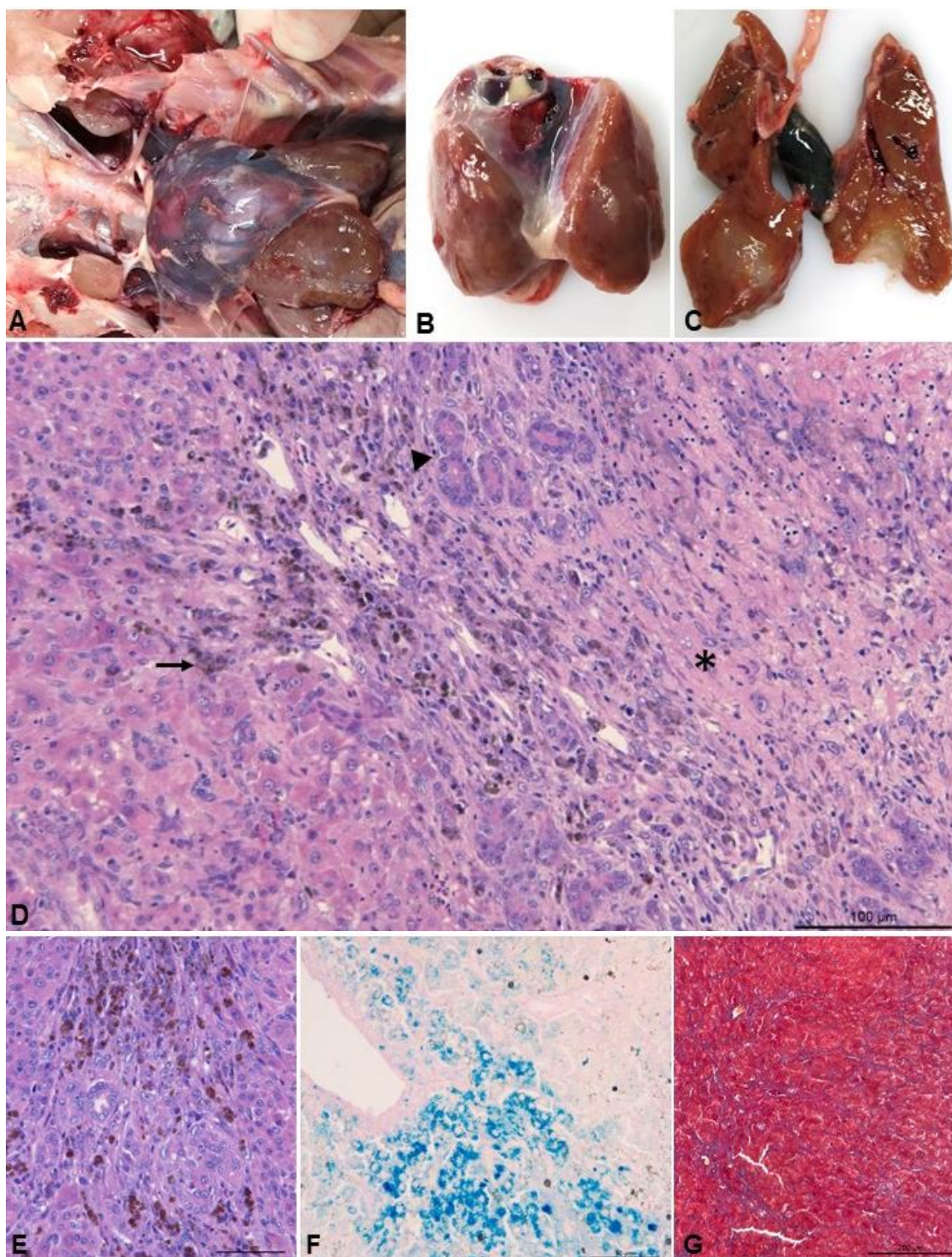


Figura 19. Achados anátomo-histopatológicos em galinhas de postura (casos 274 a 278), de 17 semanas, com hepatopatia tóxica. (A) Saco pericárdio intensamente dilatado, preenchido por conteúdo líquido sanguinolento. (A e B) Fígado acastanhado, intensamente diminuído, e na cápsula há áreas multifocais esbranquiçadas e espessas. (C) Fígado da imagem B ao corte. Há áreas esbranquiçadas e firmes que se aprofundam ao parênquima. Vesícula biliar intensamente dilatada. (D) Pigmento acastanhado moderado (seta), hiperplasia de ductos biliares acentuada (cabeça de seta) e proliferação moderada de tecido conjuntivo fibroso (*). Barra: 100µm. (E)

Pigmento marrom intracitoplasmático em hepatócitos e macrófagos. Barra: 50µm. Hematoxilina eosina (HE). (F) Marcação azul em citoplasma de hepatócitos evidenciando hemossiderina intracitoplasmática moderada. Barra: 50µm. Azul da Prússia (AP). (G) Marcação azul de fibras de colágeno, caracterizando fibrose multifocal moderada (F). Barra: 200µm. Tricrômico de Masson (TM).

4.4.5. Alterações circulatórias

Fígado com hiperemia passiva crônica (fígado cardíaco) foi diagnosticado em duas aves (casos 279 e 292) de 31 e 79 semanas, respectivamente.

4.4.5.1. Histórico clínico

As aves apresentaram dificuldade respiratória e cianose.

4.4.5.2. Achados anátomo-histopatológicos

As aves estavam cianóticas (Figura 20A). A cavidade celomática estava distendida, com intensa quantidade de líquido (Figura 20B), os fígados intensamente e difusamente diminuídos de tamanho, intensamente esbranquiçados, com superfície irregular e firmes, havia fibrose da cápsula (Figura 20C). Nestes casos, o coração estava aumentado de volume (Figura 20C), ao corte observou-se dilatação ventricular e miocárdio delgado, caracterizando cardiomiopatia dilatada (Figura 20D). Nos dois (2/2) casos, a histopatologia hepática revelou hiperemia passiva crônica e fibrose centrolobular e em ponte com perda de hepatócitos (Figura 19E).

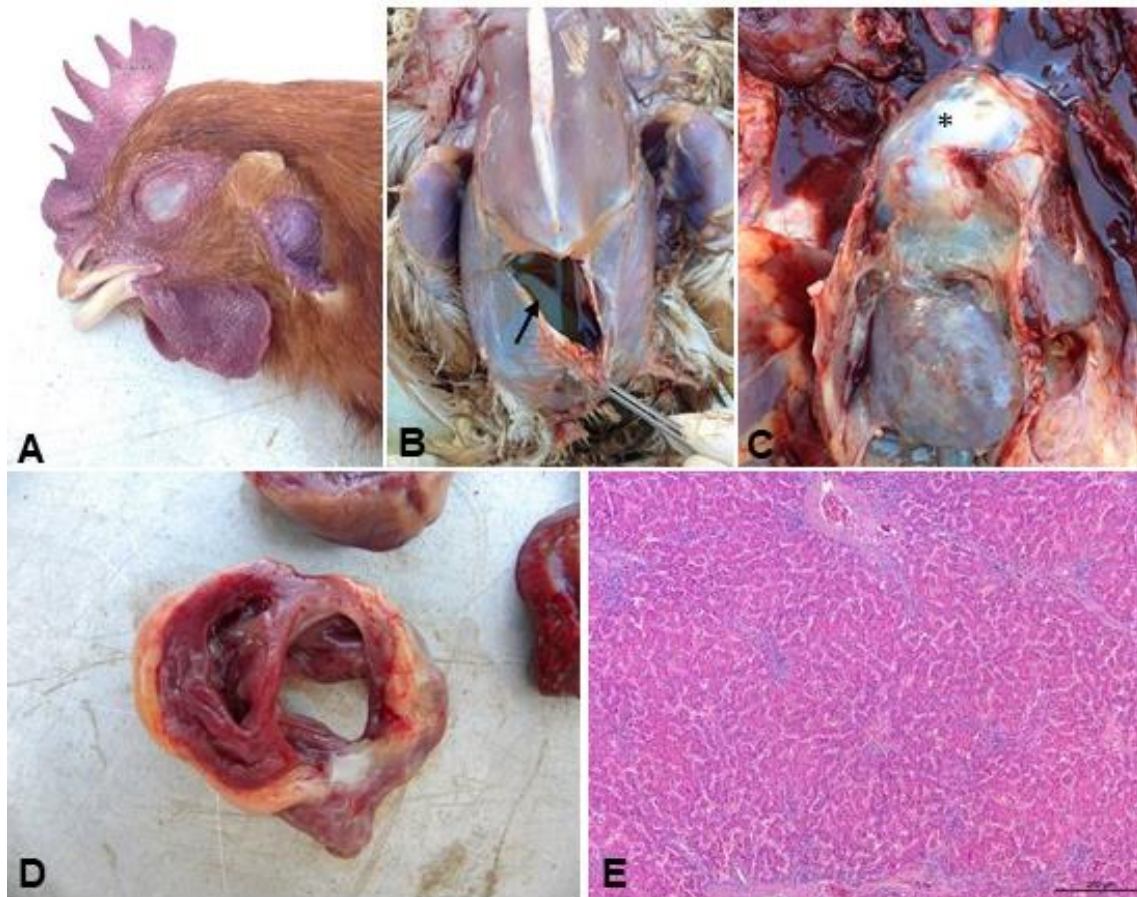


Figura 20. Achados anátomo-histopatológicos em galinha de postura (Caso 279), adulta, com cardiomiopatia dilatada e fígado cardíaco. (A) Cristas e barbelas intensamente e difusamente cianóticas. Nota-se bico aberto, evidenciando dificuldade respiratória. (B) Cavidade celomática distendida (seta), com intensa quantidade de líquido discretamente amarelado e translúcido. (C) Fígado intensamente e difusamente diminuído de tamanho, intensamente esbranquiçado, com superfície irregular e firme. (C) Coração aumentado de volume (*). (D) Corte transversal do coração, evidenciando dilatação ventricular acentuada e miocárdio delgado, caracterizando cardiomiopatia dilatada. (E) Predominantemente em região centrolobular e por vezes interligando regiões centrolobulares, há tecido conjuntivo fibroso, moderado, caracterizando fibrose centrolobular e em ponte, moderada. Barra: 200µm. Hematoxilina eosina (HE).

4.4.6. Doenças neoplásicas

Apenas uma poedeira (caso 288) com 19 semanas de idade foi acometida por neoplasia.

4.4.6.1. Achados anátomo-histopatológicos

Macroscopicamente, observou-se hepatomegalia discreta, e além disso, o fígado estava esbranquiçado. A histopatologia revelou proliferação neoplásica, bem delimitada, não

encapsulada e expansiva, multifocal a coalescente aleatória, composta por células redondas morfologicamente similares a linfócitos, dispostas em manto, com citoplasma de tamanho escasso e basofílico, com núcleo central, arredondado e de cromatina densa contendo nucléolo único ou múltiplo, com anisocariose e anisocitose discretas. A proliferação era sustentada por estroma fibrovascular escasso (Figura 21). Mediante estes achados, o diagnóstico foi de leucose.

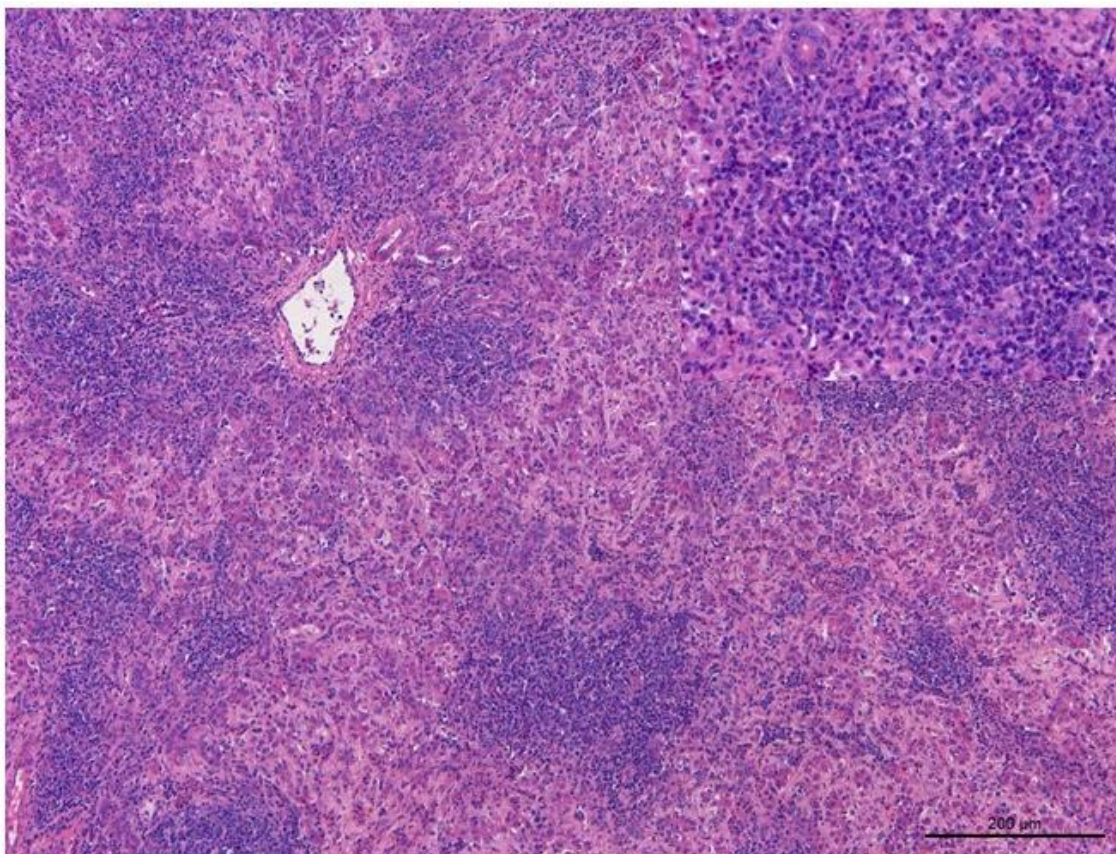


Figura 21. Achados histopatológicos em fígado de galinha de postura (Caso 288), adulta, com leucose. Perda da arquitetura hepática, caracterizada por proliferação neoplásica multifocal a coalescente aleatória, composta por células redondas, dispostas em manto, sustentada por estroma fibrovascular escasso. Inset: proliferação neoplásica composta por células neoplásicas, redondas, morfologicamente similares a linfócitos, com citoplasma de tamanho escasso e basofílico, com núcleo central, arredondado e de cromatina densa contendo nucléolo único ou múltiplo, com anisocariose e anisocitose discretas. Barra: 200 μ m. Hematoxilina e eosina (HE).

4.5. Aves de subsistência

Das 31 aves de subsistência, em seis foram obtidos dois diagnósticos, totalizando 37 diagnósticos etiológicos. Nestas aves, as alterações mais frequentes foram as metabólicas, seguido por degenerativas, bacterianas, protozoárias e neoplásicas (Figura 22). A idade destas aves variou de 4 a 104 semanas.

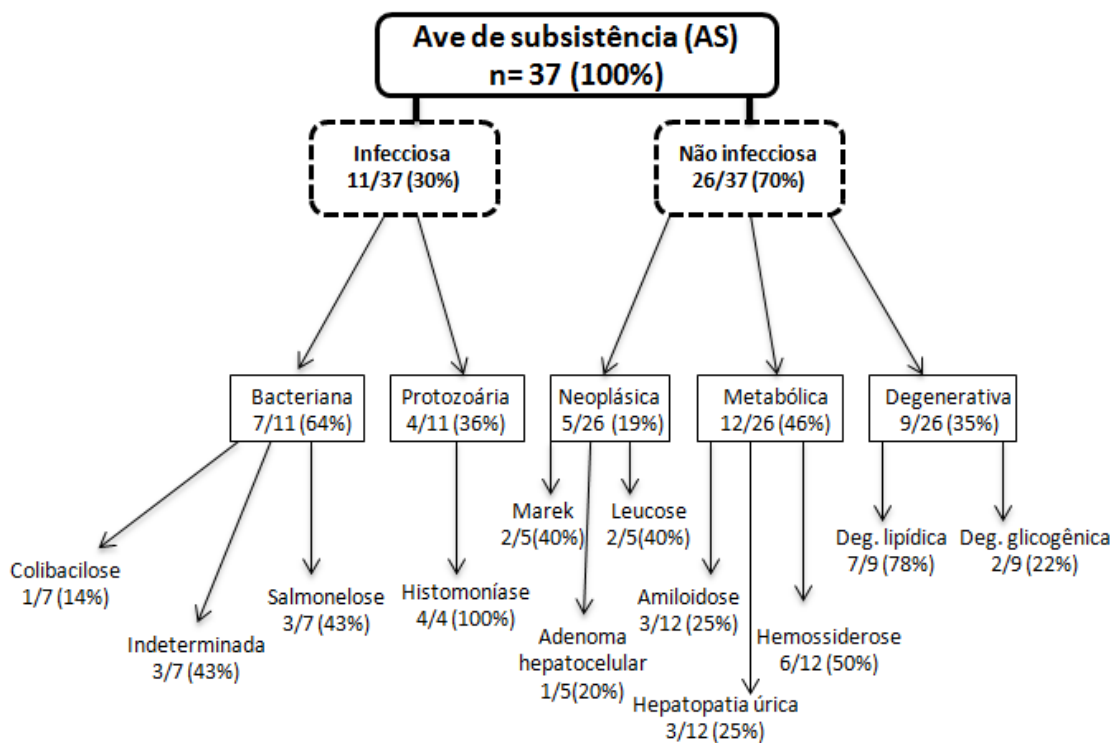


Figura 22. Distribuição dos diagnósticos de alterações hepáticas em aves de subsistência, quanto à etiologia infecciosa e não infecciosa.

4.5.1. Doenças metabólicas

Os 12 diagnósticos de doenças metabólicas em aves de subsistência foram atribuídos a hemossiderose, com seis (6/12) casos (250 a 255), amiloidose com três (3/12) casos (245 a 247) e por fim hepatopatia úrica, também com três (3/12) casos (256 a 258). A idade de umas das aves (caso 257) com hepatopatia úrica era de 43 semanas.

4.5.1.1. Histórico clínico

Nas seis (6/6) aves com hemossiderose foram observados sinais clínicos de apatia (casos 250 a 255), em cinco (5/6) aves constatou-se diarreia (casos 251 a 255), em uma (1/6) ave foi descrito hiporexia e dificuldade respiratória (caso 250). Em um dos casos (257) de hepatopatia úrica, a ave apresentou cianose e apatia seguida de morte. No caso 256, a ave morreu subitamente, sem manifestação clínica, sendo relatado aumento de mortalidade no plantel.

4.5.1.2. Achados anátomo-histopatológicos

Em uma (1/6) das aves diagnosticadas com hemossiderose (caso 250), o fígado estava vermelho-amarelado, com pontos branco-amarelados milimétricos na superfície subcapsular e no parênquima. Na histopatologia, nas seis (6/6) aves havia macrófagos com material granular acastanhado a marrom intracitoplasmático, caracterizando hemossiderose multifocal. Em duas (2/3) aves com hepatopatia úrica, havia hepatomegalia (casos 257 e 258) e deposição de material granular esbranquiçado e áspero (depósito de uratos) na superfície capsular e parênquima hepático (casos 256 e 257), bem como na superfície de outros órgãos, como rins, pericárdio, pulmão (caso 256) (Figura 23A) e articulação (caso 256). Nas três (3/3) aves, a histopatologia revelou áreas com perda e necrose de hepatócitos (Figura 23B), com restos celulares circundados por estruturas negativamente coradas e basofílicas, afiladas e dispostas radialmente, caracterizando depósito de urato no fígado (Figura 23C) e no baço (Figura 23D) (Caso 256). As lesões hepáticas nas três (3/3) aves diagnosticadas com amiloidose (245 a 247) eram caracterizadas por acúmulo de material amorfo e eosinofílico no espaço de Disse, levando a atrofia e perda de hepatócitos adjacentes.

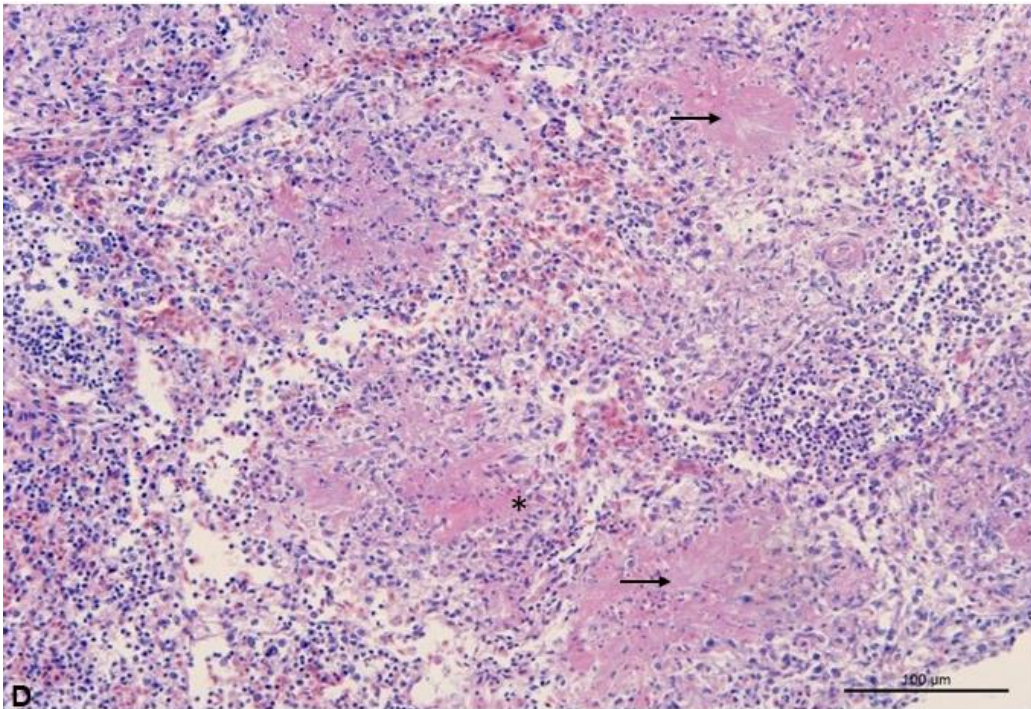
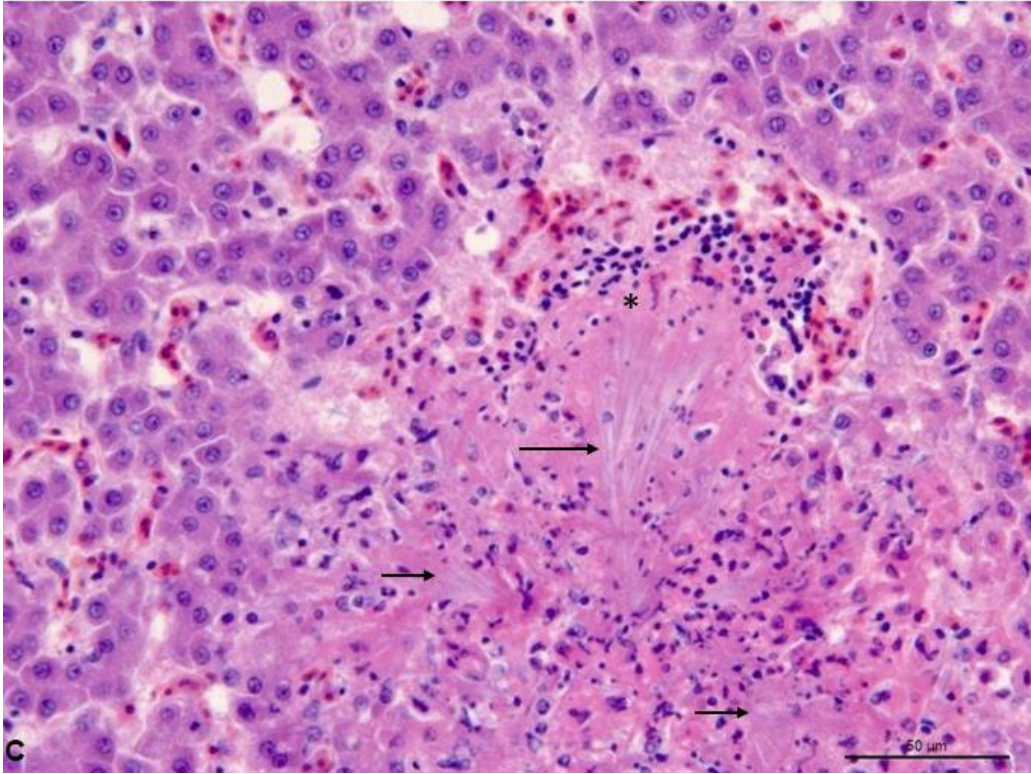
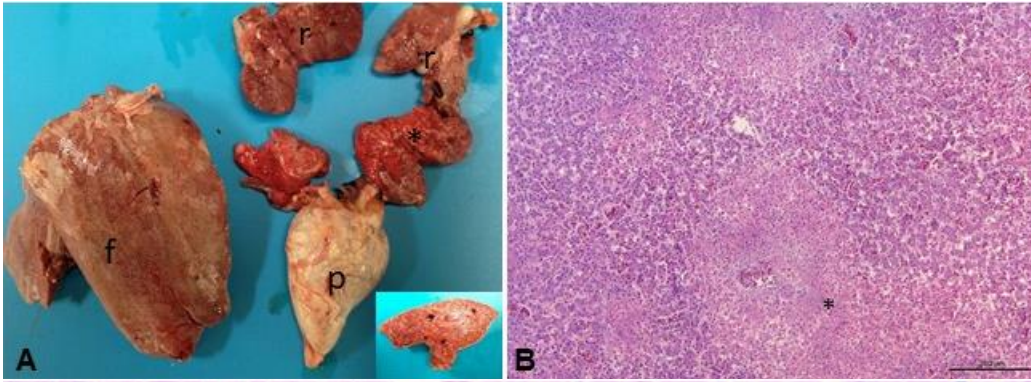


Figura 23. Achados anátomo-histopatológicos em galinha de subsistência (Caso 256), com deposição visceral de urato. (A) Fígado moderadamente aumentado (f), com bordos abaulados. Deposição moderada a acentuada de material granular esbranquiçado e áspero (urato) em superfície hepática, esplênica, renal (r), pulmonar (*) e pericárdica (p). Inset: Fígado ao corte transversal, superfície irregular, com pontos elevados multifocais a coalescentes, milimétricos e esbranquiçados. (B) Histopatologia do fígado mostrado na imagem A. Perda da arquitetura hepática, multifocal a coalescente aleatória, caracterizada por áreas com perda e necrose de hepatócitos e restos celulares acentuada (*). Barra: 200µm. (C) Maior aumento do fígado mostrado na imagem B. Área focalmente extensa de necrose com restos celulares e ao centro, há estruturas negativamente coradas e basofílicas, afiladas e dispostas radialmente, caracterizando depósito de urato multifocal (seta) associada a infiltrado granulomatoso (*). Barra: 50µm. (D) Perda da arquitetura esplênica, multifocal a coalescente, caracterizada por áreas de necrose, associada a estruturas negativamente coradas e basofílicas, afiladas e dispostas radialmente, caracterizando depósito de urato multifocal (seta) envoltas por restos celulares e infiltrado inflamatório (*). Barra: 100µm. Hematoxilina e eosina (HE).

4.5.2. Alterações degenerativas

As alterações degenerativas compreenderam nove casos, sendo sete (7/9) degeneração lipídica (casos 166 a 172) e dois (2/9) casos de degeneração glicogênica (casos 214 e 215). Uma (1/7) das aves com lipidose (caso 166) tinha 104 semanas.

4.5.2.1. Histórico clínico

Todas as sete (7/7) aves com lipidose apresentaram apatia (casos 166 a 172), cinco (5/7) aves tiveram diarreia (168 a 172), uma (1/7) emaciação (caso 166) e uma (1/7) ave apresentou hiporexia e dificuldade respiratória (caso 167). Dificuldade de locomoção foi observada em uma (1/2) ave com degeneração glicogênica (caso 215).

4.5.2.2. Achados anátomo-histopatológicos

Macroscopicamente, em uma (1/7) ave com lipidose (caso 167), o fígado estava vermelho-amarelado com pontos branco-amarelados em superfície e parênquima. Na histopatologia, em seis (6/7) aves com lipidose os hepatócitos estavam difusamente tumefeitos, com grandes vacúolos intracitoplasmáticos (macrovacuolar), bem delimitados, deslocando o

núcleo para a periferia (casos 167 a 172). Em apenas um caso, a degeneração era microvacuolar (caso 166). Na histopatologia hepática das duas (2/2) aves acometidas por degeneração glicogênica (casos 214 e 215), havia nos hepatócitos vacuolizações intracitoplasmáticas, pobremente delimitadas e rendilhadas.

4.5.3. Doenças bacterianas

Neste estudo, as hepatites bacterianas ocorreram em sete aves de subsistência, tendo como agente etiológico *Salmonella* spp., em três (3/7) aves (casos 11 a 13), com idade de 12 semanas, um (1/7) caso (26) associado a *Escherichia coli* e três (3/7) casos (78 a 80), onde não foi possível confirmar o agente etiológico envolvido.

4.5.3.1. Histórico clínico

Nas três (3/3) aves com salmonelose (casos 11 a 13) foram observados quadros de apatia, diarreia e decúbito esternal, associados à alta mortalidade do plantel. Inapetência e apatia foram descritas na ave com colibacilose (caso 26).

4.5.3.2. Achados anátomo-histopatológicos

As alterações macroscópicas observadas nas aves com salmonelose foram hepatomegalia associada a fígado vermelho-acobreado em duas (2/3) aves (casos 11 e 12), e fígado com pontos esbranquiçados milimétricos em uma (1/3) ave (caso 13). A histopatologia destes casos revelou hepatite necrótica, heterofílica e histiocitária nas três (3/3) aves (casos 11 a 13), com nódulos tifoides em duas (2/3) aves (casos 12 e 13). Na ave com colibacilose (caso 26) havia áreas irregulares, deprimidas, esbranquiçadas e firmes no parênquima hepático. Neste caso, a alteração histopatológica foi caracterizada como hepatite necrótica e granulomatosa multifocal a coalescente. Das três (3/7) aves onde não foi determinado o agente bacteriano envolvido, em uma (1/3) havia área esbranquiçada e deprimida que se aprofundava ao parênquima hepático. Na histopatologia, nas aves 78 e 79 observou-se um quadro de hepatite fibrino-necrótica linfocitoplasmocitária e heterofílica multifocal, com vasculite, fibrose periportal e hiperplasia de ductos biliares. Na ave do caso 80, havia hepatite fibrino-necrótica e heterofílica multifocal a coalescente.

4.5.3.3. Exames auxiliares

Os fígados dos casos 11, 12, 13 e 26 foram coletados de forma asséptica para realização de exame bacteriológico, confirmando a infecção para *Salmonella* spp. (casos 11 a 13) e *Escherichia coli* (caso 26). Após isolamento, as colônias de *Salmonella* sp. foram encaminhadas para sorotipificação, confirmando *Salmonella* Gallinarum. A imuno-histoquímica realizada para fígado e baço destes casos (11 a 13), revelou imunomarcção intracitoplasmática para *Salmonella* spp., nos três casos.

4.5.4. Doenças neoplásicas

Nas aves de subsistência, cinco (5/36) diagnósticos de doenças neoplásicas foram obtidos, sendo dois (2/5) associados à doença de Marek (casos 286 e 287), dois (2/5) a leucose aviária (casos 289 e 290) e um (1/5) a adenoma hepatocelular (291). A idade foi informada em apenas um caso (287), tendo a ave 47 semanas. A ave acometida por adenoma hepatocelular era uma galinha adulta.

4.5.4.1. Histórico clínico

Uma (1/2) das aves, a qual foi diagnosticada com doença de Marek (caso 287), apresentava sinais clínicos como fraqueza, dificuldade de locomoção e hiporexia. Apatia, hiporexia e dificuldade respiratória foram sinais observados na ave com adenoma hepatocelular.

4.5.4.2. Achados anátomo-histopatológicos

Em ambas (2/2) as aves diagnosticadas com doença de Marek (casos 286 e 287), as lesões hepáticas foram caracterizadas por nódulos esbranquiçados, variando de milimétricos a 1,0 cm de diâmetro, bem delimitados, macios e sólidos (caso 286), evidente na superfície subcapsular e no parênquima. A histopatologia do fígado das duas (2/2) aves revelou proliferação neoplásica, não encapsulada, infiltrativa e pobremente delimitada, composta por células redondas a ovais dispostas em padrão sólido, com limites celulares distintos, citoplasma escasso e fracamente basofílico, com cromatina frouxamente organizada, núcleos volumosos e dois a três nucléolos evidentes. Intenso pleomorfismo celular e numerosas figuras de mitose também foram visualizadas. Além do fígado, lesões macroscópicas semelhantes foram observadas em pulmão (casos 286 e 287), músculo esquelético (caso 286) e nos rins, oviduto, bolsa cloacal e pró-ventrículo (caso 287). Na histopatologia, além de lesões proliferativas nestes tecidos também foram observadas no nervo ciático e na medula óssea (caso 287).

Hepatomegalia (caso 290) associada a formações nodulares brancas (casos 289 e 290) foram observadas nas aves diagnosticadas com leucose. No exame histopatológico observaram-se apresentações distintas. No caso 289, a proliferação neoplásica era não encapsulada, expansiva e bem delimitada, e no caso 290 a proliferação era infiltrativa e mal delimitada. A neoplasia era composta por células redondas dispostas em manto, com limites precisos, citoplasma escasso e basofílico, por vezes eosinofílico, núcleo central e arredondado, com nucléolo único ou múltiplo evidente. Discreto pleomorfismo celular foi observado no caso 289, já no caso 290, havia moderada anisocariose e anisocitose e algumas figuras de mitose. Na ave do caso 290, havia também, alterações macroscópicas e histopatológicas de infiltrado neoplásico semelhante ao descrito para o fígado em baço, ovário, rins, intestino e traqueia. O nervo ciático foi examinado e alterações macroscópicas e histológicas não estavam presentes.

Hepatomegalia também foi um achado macroscópico descrito na ave com adenoma hepatocelular (caso 291). Além disso, no parênquima hepático havia uma massa tumoral expansiva, de aproximadamente 10 cm de diâmetro, com áreas vermelho-pálidas e vermelho-escuras entremeadas por áreas amareladas (Figura 24A). A massa era friável e vascularizada (Figura 24B). A histopatologia revelou proliferação neoplásica mal delimitada e expansiva. A neoplasia estava organizada em cordões composta por células cúbicas ou redondas, dispostas em cordões ou arranjos glandulares com ou sem lúmen, sustentadas por estroma conjuntivo delgado. Observou-se anisocitose e anisocariose moderada, e figuras de mitose não foram observadas. Associado, havia compressão do parênquima hepático adjacente (Figura 24C).

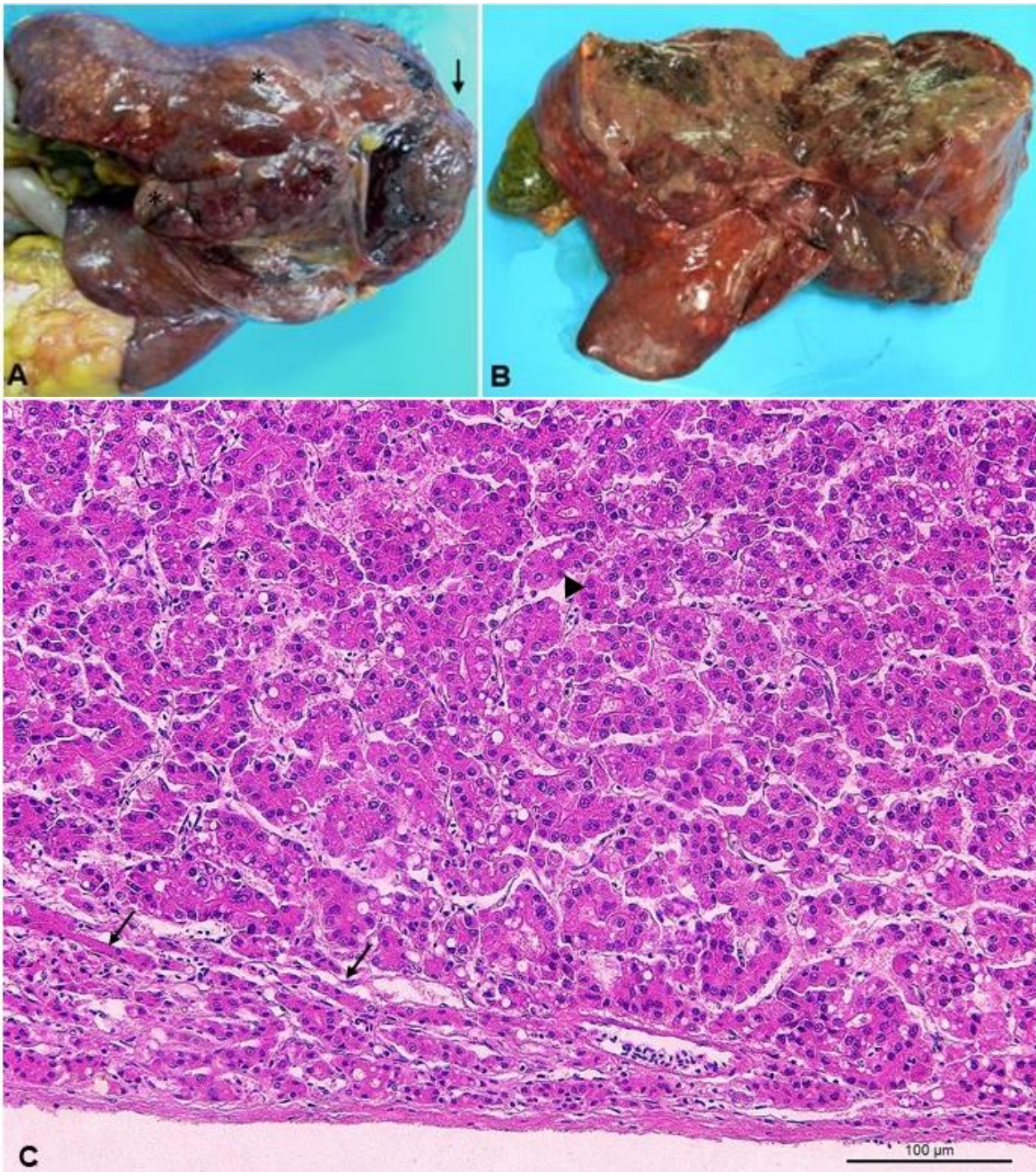


Figura 24. Achados anátomo-histopatológicos em galinha de subsistência (caso 291), adulta, com adenoma hepatocelular. (A) Fígado moderadamente aumentado, com nódulos (*) e massa tumoral em parênquima, de aproximadamente 10 cm de diâmetro (seta), expansiva, com áreas vermelho-pálidas e vermelho escuras entremeadas por áreas amareladas. (B) Massa tumoral friável e vascularizada, que ao corte se aprofunda no parênquima hepático. (C) Parênquima hepático com cordões de hepatócitos comprimidos (seta) ou substituídos por proliferação neoplásica, composta por células cúbicas ou redondas com anisocitose e anisocariose moderadas, dispostas em cordões ou arranjos glandulares (cabeça de seta), com ou sem lúmen, e sustentadas por estroma conjuntivo delgado. Barra: 50 μ m. Hematoxilina e eosina (HE).

4.5.5. Doenças causadas por protozoários

Histomoníase foi diagnosticada em quatro (4/36) aves de subsistência (casos 89 a 92). Em duas aves a idade não foi informada (casos 91 e 92) e as outras duas aves (casos 89 e 90) tinham quatro semanas de idade.

4.5.5.1. Histórico clínico

As aves de quatro semanas (casos 89 e 90) apresentaram diminuição no consumo de ração, fraqueza, apatia e aumento da mortalidade no plantel. Além de outras galinhas, estas aves conviviam com galinhas d'angola, gansos e patos.

4.5.5.2. Achados anátomo-histopatológicos

Macroscopicamente, dois (2/4) fígados (casos 89 e 90) estavam aumentados de volume, com superfície subcapsular irregular, com áreas circulares, bem delimitadas, amareladas e com centro avermelhado e deprimido, que se aprofundava ao corte, caracterizando hepatite necrótica multifocal (Figura 25A). Em dois (2/4) casos, os fígados estavam amarelados e com áreas esbranquiçadas milimétricas planas. Os achados histopatológicos foram similares em todas as aves (4/4), e estes eram caracterizados por áreas de necrose de coagulação e necrose lítica (Figura 25B), associadas a infiltrado histiocitário (2/4) (Figura 25C) nos casos 89 e 90, e granulomatoso e heterofílico (2/4) nos casos 91 e 92. Juntamente com as áreas de necrose e infiltrado inflamatório foram visualizadas numerosas estruturas eosinofílicas arredondadas de 10 a 20 µm, com cápsula em imagem negativa compatíveis com trofozoítos de *Histomonas meleagridis* (Figura 25D), caracterizando um quadro de hepatite necrótica (4/4). Além disso, outras alterações macroscópicas e histológicas foram identificadas no ceco das aves 89 e 90, caracterizadas como tífite necrótica e histiocitária associada a trofozoítos de *Histomonas meleagridis*.

4.5.5.3. Exames auxiliares

Os quatro fígados diagnosticados histologicamente com histomoníase pela coloração de rotina (hematoxilina eosina- HE), foram submetidos à coloração especial, a qual revelou protozoários PAS positivos em todas as secções avaliadas (Figura 25E).

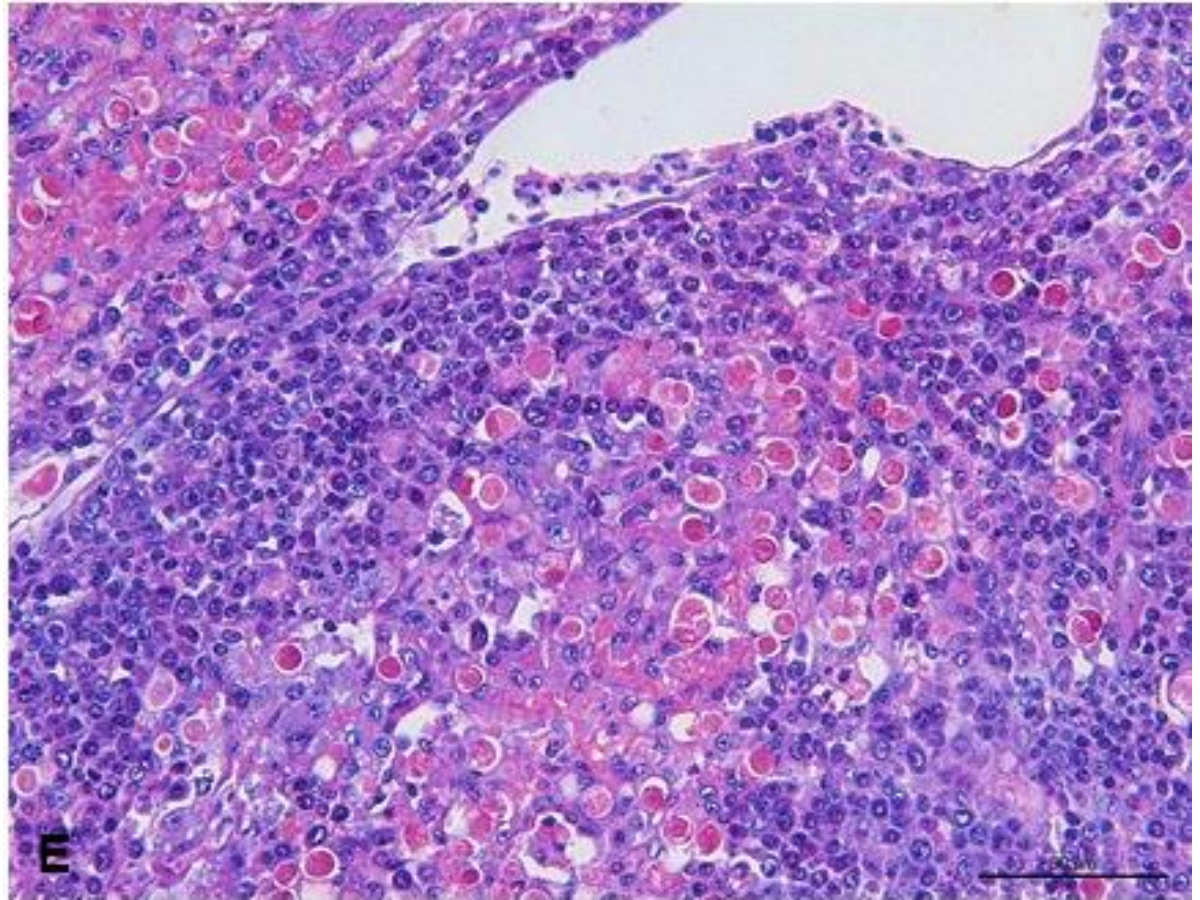
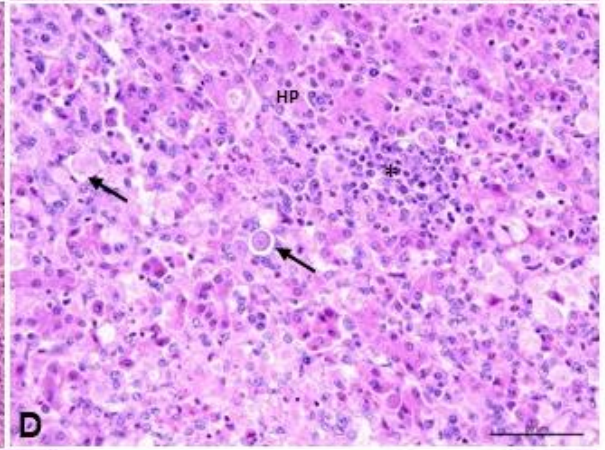
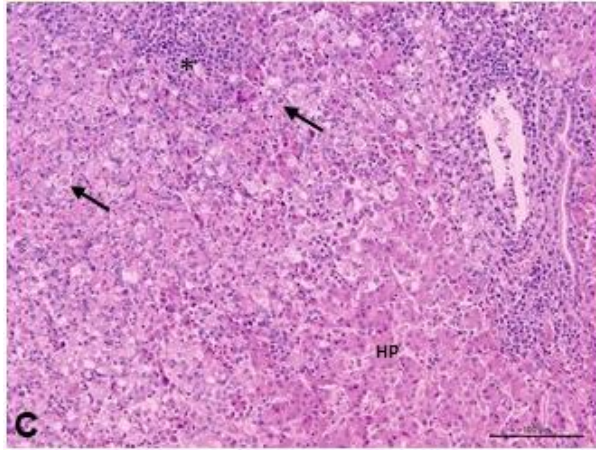
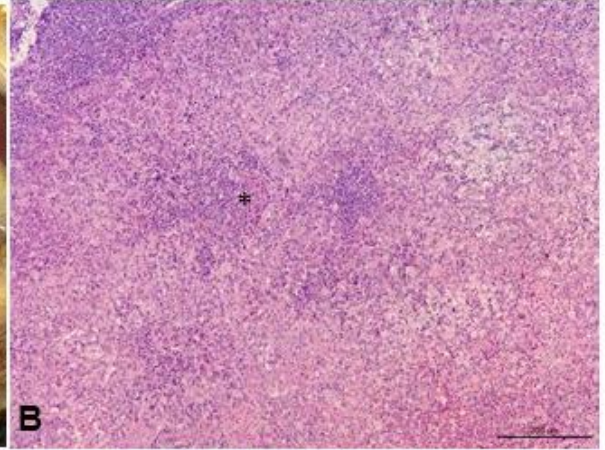


Figura 25. Achados anátomo-histopatológicos e histoquímicos em ave de subsistência (Caso 89), de 4 semanas, com histomoníase. (A) Fígado discretamente aumentado, com superfície subcapsular irregular, com áreas circulares, bem delimitadas, amareladas e com centro avermelhado e deprimido. (B) Histopatologia do fígado mostrado na imagem A. Perda da arquitetura hepática, caracterizada por áreas de necrose de coagulação e necrose lítica, multifocal a coalescente aleatória associadas a infiltrado inflamatório intenso (*). Barra: 200µm. (C) Adjacente a hepatócitos preservados (HP) há área focalmente extensa de necrose, associada a infiltrado linfo-histiocitário e heterofílico (*) com numerosas estruturas eosinofílicas arredondadas de 10 a 20 µm, com cápsula em imagem negativa compatíveis com trofozoítos de *Histomonas meleagridis* (seta). Barra: 100µm. (D) Maior aumento da imagem C. Trofozoítos (setas) e infiltrado histiocitário e linfocitário. Barra: 50 µm. Hematoxilina e eosina (HE). (E) Trofozoítos de *Histomonas meleagridis* PAS-positivos, associados a perda de hepatócitos e infiltrado inflamatório (macrófagos, linfócitos e plasmócitos). Barra: 50 µm. Ácido periódico de Schiff (PAS).

Tabela 5. Diagnósticos morfológicos das hepatites infecciosas em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*)

sem confirmação por exames auxiliares

Diagnóstico morfológico	Ave			Caso	Total
	FC	GP	AS		
Hepatite heterofílica (mc)	1			50	1
Hepatite heterofílica (mc)		2		72,73	2
Hepatite heterofílica e histiocitária (mc)	1			51	1
Hepatite heterofílica e histiocitária portal, (mc)	1			40	1
Hepatite heterofílica e linfoplasmocitária (mc)	1			59	1
Hepatite periportal heterofílica e histiocitária e (ma)	2			41,42	2
Hepatite linfo-histiocitária (m)	1			43	1
Hepatite fibrinosa (ma) com agregados bacterianos	4			53,54,55,56	4
Hepatite fibrinonecrótica (m) com trombos		1		299	1
Hepatite fibrinonecrótica (mc)	1	4	1	60,68,69,70,71,80	6
Hepatite fibrinonecrótica (a)		1		77	1
Hepatite fibrinonecrótica (ma)	1	1		49,76	2
Hepatite fibrinonecrótica (ma) com nódulos tifoides e microtrombos		1		75	1
Hepatite fibrinonecrótica (m) com vasculite	1			62	1
Hepatite fibrinonecrótica (m), com vasculite, fibrose periportal e hiperplasia de ductos biliares			2	78,79	2
Hepatite fibrinonecrótica (mc) com fibrose periportal e proliferação de ductos biliares	1			61	1
Hepatite fibrinonecrótica e hemorrágica (mc) com vasculite e necrose fibrinoide		1		66	1
Hepatite fibrinonecrótica (mc) com trombose e bilestase		1		74	1
Hepatite necrosupurativa (m)		1		67	1
Hepatite necrótica (m)	2			38,58	2
Hepatite necrótica (m) com vasculite		3		63,64,65	3
Hepatite necrótica (ma)	2			48,52	2
Hepatite necrótica (mc) com múltiplos trombos	1			44	1
Hepatite necrótica (fe)	1			47	1
Hepatite necrótica e granulomatosa (m)	1			45	1
Hepatite necrótica e granulomatosa (mc)	1			46	1
Hepatite necro-hemorrágica e linfocitária granulomatosa (mc)	3			86,87,88	3
Hepatite necro-hemorrágica e heterofílica (m)		2		280, 281	2
Hepatite granulomatosa com fibrose (mc)	1			57	1
Pericolangite e hepatite (mc)	1			39	1
Total geral	28	18	3		49

Legenda: FC= frango de corte. GP= galinha de postura. AS= ave de subsistência. f=focal. fe= focalmente extenso. m=multifocal. mc= multifocal a coalescente. ma= multifocal aleatório. a= aleatório.

Os diagnósticos morfológicos das hepatopatias infecciosas, com causa determinada (Tabela 6) e os resumos dos diagnósticos das hepatopatias não infecciosas (Tabela 7), são listados a seguir. Das alterações não infecciosas, a lipidose foi a mais variável em relação a distribuição e intensidade, com predomínio da intensidade moderada a acentuada. Alterações histopatológicas extra-hepáticas relacionadas às hepatopatias estão descritas na tabela 8.

Tabela 6. Diagnóstico morfológico e etiologia das hepatites infecciosas em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*)

Diagnóstico morfológico	Etiologia					Ave			Caso	T
	Salm.	E.coli	Strep.	Avia.	Hist.	FC	GP	AS		
Hepatite necrótica (ma)	7						6	1	1,2,3,4 5,6,11	7
Hepatite necrótica (mc)			2			2			28,29	2
Hepatite necrótica e granulomatosa (mc)		1						1	26	1
Hepatite necrótica, com nódulo tifoides, (mc)	3						1	2	12,13,14	3
Hepatite necrótica (mc) aleatória com corpúsculos de inclusão intranucleares				5		5*			81,82,83 84,85	5
Hepatite necrótica (mc) aleatória, com trofozoítos intralésionais					4			4	89,90 91,92	4
Hepatite necrótica (mc) e peri-hepatite linfo-histioplasmocitária e heterofílica (m)			2			2			30,31	2
Hepatite fibrinonecrótica (m)	5						5		7,8,9 10,15	5
Hepatite fibrinonecrótica (mc), com necrose fibrinóide dos vasos	1						1		16	1
Hepatite fibrinonecrótica (mc), com necrose fibrinóide dos vasos e vasculite	1						1		17	1
Peri-hepatite linfo-histioplasmocitária e heterofílica, (m)			1			1			27	1
Peri-hepatite linfo-histioplasmocitária e heterofílica, (m), com proliferação de ductos			2			2			32,33	2
Peri-hepatite fibrinosa (fe) com microtrombos		5					5		21,22,23 24,25	5
Peri-hepatite fibrino-supurativa acentuada com bastonetes intralesionais		3				3			18,19,20	3
Colangio-hepatite fibrinonecrótica (d), com numerosas bactérias cocóides			2				2		35,36	2
Colangite fibrinosa (mc)			2				2		34,37	2
Total geral	17	9	11	5	4	15	23	8		46

Legenda: Salm= *Salmonella*. E.coli= *Escherichia coli*. Strep= *Streptococcus gallolyticus/gallinarum*. Avia= Aviadenovírus. Hist = *Histomonas meleagridis*. FC= frango de corte. GP= galinha de postura. AS= ave de subsistência. T= total. * = matriz pesada. f= focal. fe= focalmente extenso. m= multifocal. mc= multifocal a coalescente. ma= multifocal aleatório. a= aleatório. d= difuso.

Tabela 7. Diagnóstico morfológico e etiologia das hepatopatias não infecciosas em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*)

Diagnóstico morfológico	Etiologia											Ave			T	
	Deg		Met					Tox	DC	Neo			FC	GP		AS
	LP	G	AM	HS	HU	S	HT	FC	L	M	A					
Degeneração lipídica	x												63	14	7	84
Degeneração glicogênica		x											35	6	2	43
Hepatite necrótica com deposição de amiloide			x											12		12
Deposição de amiloide			x											17	3	20
Hemossiderose				x										2	6	8
Necrose e perda de hepatócitos associada a depósito de uratos						x										3
Lipidose associada à hemorragia							x								3	3
Degeneração lipídica com proliferação de ductos								x					1			1
Degeneração lipídica com hemorragia e proliferação de ductos								x					1			1
Degeneração hidrópica e vacuolar com cariomegalia e hiperplasia de ducto biliar								x						5		5
Necrose de coagulação centro-lobular a médio zonal								x					8			8
Necrose e hemorragia								x					4			4
Necrose de coagulação e degeneração hepática centrolobular a médio-zonal e em ponte								x					1			1
Congestão moderada									x				4			4
Fibrose centrolobular										x				2		2
Leucose											x			1	2	3
Doença de Marek												x			2	2
Adenoma hepatocelular															1	1
Total geral													117	62	26	205

Legenda: Deg=degenerativa. LP=degeneração lipídica. G= degeneração glicogênica. Met= metabólica. AM=amiloidose. HS= hemossiderose. HU= hepatopatia úrica. S= síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico. Tox= tóxica. HT=hepatopatia tóxica. D.cir= Distúrbio circulatório. H=hemorragia. FC= fígado cardíaco. Neo= neoplásica. L= leucose. M= Doença de Marek. A= adenoma hepatocelular. T= total. FC= frango de corte. GP= galinha de postura. AS= ave de subsistência.

Tabela 8. Alterações histológicas extra-hepáticas associadas a hepatopatias não infecciosas e infecciosas em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*)

Etiologia	Diagnóstico morfológico	Ave			Caso	Total
		FC	GP	AS		
Não infecciosa						
Degeneração lipídica	Enterite linfocitária	1			95	1
	Enterite linfoplasmocitária com cestódeos no lúmen			5	168,169,170 171,172	5
	Esplenite heterofílica	4			173,174 175,176	4
Degeneração glicogênica	Ileíte heterofílica	4			173,174 175,176	4
	Tiflite heterofílica	4			173,174 175,176	4
	Esplenite fibrinonecrótica (m)		5		208,209,210 211,212	5
Amiloidose	Baço: Deposição de amiloide em vasos sanguíneos		4		226,227 228,229	4
	Endocardite valvar fibrinonecrótica com agregados bacterianos intralesionais			1	246	1
	Miocardite linfocitária e heterofílica (mc) com fibrose			1	246	1
	Enterite necrosante (d) com bactérias intralesionais			1	245	1
	Esplenite fibrinosa (d) com bactérias intralesionais			1	245	1
	Esplenite (mc)		2		216,217	2
	Laringotraqueíte fibrinonecrótica (d)		4		222,223 224,225	4
	Sinusite linfoplasmocitária (d) com agregados basofílicos compatíveis com bactérias		2		224,225	2
	Miosite necrosante (m) associada a veículo vacinal e atrofia difusa		6		238,239,240 241,242,243	6
	Miosite necrosante (m) associada a veículo vacinal		1		244	1
	Osteomielite e tendinite necroheterofílica e granulomatosa		1		247	1
	Glomerulonefrite membranoproliferativa		1		247	1
Hemossiderose	Congestão pulmonar (d)		2		248,249	2
	Glomerulonefrite proliferativa		2		248,249	2
	Enterite linfoplasmocitária com cestódeos no lúmen			5	251,252,253,254,255	5
	Baço: hemossiderose (m)			5	251,252,253,254,255	5

Hepatopatia úrica	Necrose e perda de glomérulos e túbulos associada à deposição de urato	3	256, 257, 258	3
	Baço: necrose (mc). associada a depósito de urato	3	256, 257, 258	3
	Artropatia degenerativa associada à deposição de urato	1	256	1
	Pericárdio: necrose com deposição de urato	1	258	1
Hepatopatia tóxica	Congestão pulmonar difusa	5	274, 275, 276 277, 278	5
	Glomerulonefrite proliferativa	5	274, 275, 276 277, 278	5
	Ventrículos, membrana coilina: necrose (mc)	4	263, 264, 265, 266	4
	Coração, pulmão, rim, encéfalo, pró-ventrículo: congestão	4	282, 283, 284, 285	4
Fígado cardíaco	Coração: Degeneração mixomatosa valvular	1	279	1
	Cardiomiopatia dilatada	2	279, 292	2
Leucose	Baço, ovário, rins, traqueia e intestino: Proliferação neoplásica compatível com Leucose	1	290	1
Doença de Marek	Pulmão: Proliferação neoplásica compatível com doença de Marek	2	286, 287	2
	Músculo: Proliferação neoplásica compatível com doença de Marek	1	286	1
	Nervo ciático, medula óssea, rim, baço, pró-ventrículo, bolsa cloacal, oviduto: Proliferação neoplásica compatível com doença de Marek	1	287	1
Infeciosa				
Hepatite bacteriana (indeterminada)	Periesplenite linfo-histioplasmocitária	1	66	1
	Esplenite fibrinosa (mc)	4	53, 54, 55, 56	4
	Esplenite fibrino- heterofílica (mc) com trombose	1	74	1
	Esplenite fibrinonecrótica (m)	1	61, 67, 75	3
	Esplenite necrótica (m)	1	46	1
	Esplenite necrótica (mc)	1	47	1
	Esplenite necro-hemorrágica, (mc), com trombos de fibrina e bacilos intralesionais	1	44	1
	Pericardite fibrinosa	4	53, 54, 55, 56	4
	Pericardite fibrino-heterofílica e linfo-histioplasmocitária (m)	1	75	1
	Pericardite fibrino- heterofílica (d)	1	63	1
	Pericardite histiocitária fibrinosa (d)	1	50	1
	Pericardite histiocitária fibrinosa (d)	1	59	1
	Miocardite fibrinosa	4	53, 54, 55, 56	4

	Miocardite heterofílica e histiocitária (f)	1		46	1
	Miocardite heterofílica e histiocítica (m)		1	78	1
	Onfalite granulomatosa (d) associada a bastonetes intralesionais	1		46	1
	Salpingite purulenta	1		44	1
	Aerossaculite linfo-histioplasmocitária e heterofílica (m)	1		62	1
	Aerossaculite fibrino- heterofílica (d)		1	63	1
	Inflamação do saco da gema granulomatosa e fibrinonecrótica (d) com agregados bacterianos em formato de cocos intralesionais	1		60	1
	Inflamação do saco da gema linfoplasmocitária e heterofílica com bastonetes intralesionais	1		59	1
	Meningite, coroidite e ependimite granulomatosa com numerosas bactérias intralesionais.	1		45	1
Salmonelose	Miocardite linfo-histiocitária e necrótica (m)		1	7	1
	Miocardite linfo-histiocitária (m)		1	8	1
	Esplenite heterofílica (m)	6		1,2,3,4,5,6	6
	Esplenite heterofílica (d)	2	1	13,14,15	3
	Esplenite fibrinonecrótica (m) com vasculite	2		7,8	2
	Esplenite fibrinonecrótica (mc)	2		16,17	2
	Esplenite fibrinonecrótica (mc) com vasculite	1		9	1
	Esplenite fibrinonecrótica e hemorrágica (mc) com vasculite	1		10	1
	Salpingite e ooforite heterofílica e histiocitária (m)	6		1,2,3,4,5,6	6
Colibacilose	Esplenite fibrinonecrótica (m)		1	23	1
	Esplenite necrótica e fibrinosupurativa (mc)	3		18,19,20	3
	Esplenite necrótica (m)		1	26	1
	Miocardite histiocitária e heterofílica (mc)		1	26	1
	Miocardite linfocitocitária (m)	2		19,20	2
	Pericardite fibrinosa (fe)		5	21,22,23 24,25	5
	Pericardite e epicardite fibrinosupurativa (m) com bastonetes intralesionais	3		18, 19,20	3
	Aerossaculite fibrinosa (fe) com agregados bacterianos intralesionais		1	23	1
	Aerossaculite fibrino-supurativa (d) com bastonetes intralesionais	2		19,20	2
	Saco da gema com inflamação granulomatosa (d)	2		19,20	2
	Saco da gema com necrose (d) e bastonetes intralesionais		3	21,24,25	3
Estreptococose	Pericardite fibrinosa (d)	1		33	1

	Miocardite necrosante (m)	1	33	1
	Miocardite linfo-histioplasmocitária e heterofílica (m)	2	31,32	2
	Esplenite heterofílica (d)	3	27,31,32	3
	Epicardite e miocardite linfo-histioplasmocitária (m)	2	27,28	2
	Epicardite linfo-histioplasmocitária (m)	1	29	1
Hepatite por corpúsculo de inclusão	Esplenite histiocitária (m) com corpúsculos de inclusões intranucleares	2*	81,82	2
Histomoníase	Tiflite histiocitária (d) com estruturas compatíveis com trofozoítos de <i>Histomonas meleagridis</i>	2	89,90	2
Total geral				187

Legenda: FC= frango de corte. GP= galinha de postura. AS= ave de subsistência. * = matriz pesada. f=focal. fe= focalmente extenso. m= multifocal. mc= multifocal a coalescente. ma= multifocal aleatório. a= aleatório. d= difuso.

Em alguns casos (28/300), a ave foi acometida por duas hepatopatias, recebendo assim dois diagnósticos distintos (Tabela 9). Outras doenças sem associação com as hepatopatias foram diagnosticadas em 54 aves domésticas, das quais algumas foram acometidas por mais de uma doença, totalizando 61 diagnósticos (Tabela 10).

Tabela 9. Doenças hepáticas concomitantes diagnosticadas em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*)

Hepatite bacteriana e degeneração lipídica			
Ave	Idade	Número dos casos	n
FC	45 d	42-94	1
GP	1 sem	68-161, 69-162, 70-163	3
	46 sem	299-300	1
	109 sem	71-164	1
Total			6
Hepatite bacteriana e degeneração glicogênica			
Ave	Idade	Número dos casos	n
GP	30 sem	67-208	1
Total			1
Degeneração lipídica e degeneração glicogênica			
Ave	Idade	Número dos casos	n
FC	45 d	144-201, 145-202, 146-203, 147-204, 148-205, 149-206, 150-207	7
	NI	151-196, 152-197, 153-198, 154-199, 155-200	5
GP	109 sem	165-213	1
Total			13
Degeneração lipídica e hemossiderose			
Ave	Idade	Número dos casos	n
AS	NI	167-250, 168-251, 169-252, 170-253, 171-254, 172-255	6
Total			6
Hemossiderose e hepatopatia tóxica			
Ave	Idade	Número dos casos	n
GP	17 sem	248-274, 249-275	2
Total			2
Total geral			28

Legenda: FC= frango de corte. GP= galinha de postura. AS= ave de subsistência. n= quantidade. NI= não informado. d= dias. sem= semanas.

Tabela 10. Doenças concomitantes às hepatopatias diagnosticadas em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*)

Frango de corte (FC)	Diagnóstico	N	Número do caso
	Bronquite infecciosa	4	50,51,52,261
	Micoplasmose	2	49,60
	Aspergilose	2	87,88
	Criptosporidiose	2	175,176
	Doença de Gumboro	2	50,58
	Enterite bacteriana	1	95
	Anemia infecciosa das galinhas	5	81,82,83,84,85
Total		18	
Galinha de postura (GP)	Diagnóstico	N	Número do caso
	Micoplasmose	12	218, 222, 223, 224, 225, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244
	Laringotraqueíte infecciosa	4	222,223,224,225
	Aspergilose	4	21,22,23,25
	Criptosporidiose	3	63,64,65
	Bouba aviária	2	222,223
	Doença de Gumboro	1	74
Total		26	
Ave de subsistência (AS)	Diagnóstico	N	Número do caso
	Parasitismo intestinal	6	166, 168,169,170,171,172
	Raquitismo	2	89,90
	Micoplasmose	1	91
	Coriza infecciosa	1	92
	Enterite bacteriana	1	245
	Endocardite e miocardite bacteriana	1	246
	Encefalite protozoária	1	289
	Escoliose lombar congênita	1	257
	Osteomielite e tendinite	1	247
	Linfoma cardíaco e intestinal	1	214
	Adenocarcinoma disseminado	1	80
Total		17	
Total geral		61	

Legenda: N= quantidade.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou ampla variedade de etiologias e de doenças que acometem o fígado de aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*), compreendendo alterações não infecciosas e doenças infecciosas. Até o presente momento, no Brasil, não foram publicados levantamentos sobre causas de mortalidade em aves domésticas, incluindo tanto aves de produção quanto de subsistência, assim como estudos específicos sobre a ocorrência e frequência das alterações hepáticas em aves domésticas. Desta forma, este é o primeiro estudo com foco em alterações hepáticas aviárias, mais especificamente em aves domésticas, envolvendo principalmente os achados macroscópicos, histopatológicos e etiológicos. Assim, destaca-se a importância deste estudo, com ênfase no diagnóstico das diferentes hepatopatias, incluindo agentes infecciosos com caráter zoonótico.

A frequência das alterações hepáticas em relação a etiologia, de modo geral, foi classificada da seguinte forma no presente estudo: alterações degenerativas, seguido por hepatites bacterianas, causas metabólicas, tóxicas, hepatites virais, neoplasias, hepatites protozoárias e por fim distúrbios circulatórios. Em relação ao tipo de criação, as alterações degenerativas, tóxicas, e as hepatites virais foram mais frequentes nos frangos de corte. As alterações circulatórias, metabólicas e hepatites bacterianas foram mais diagnosticadas em galinhas de postura. As neoplasias e as hepatites protozoárias ocorreram com maior frequência em aves de subsistência.

Os achados macroscópicos e histopatológicos possibilitaram o diagnóstico em 59% das aves. Em 25,5% houve a necessidade de exames auxiliares para o diagnóstico final ou para definir a etiologia e, em 15,5%, os achados histopatológicos foram insuficientes ou não foi possível a realização de exames auxiliares para a definição da etiologia. Estes resultados enfatizam a importância do exame histopatológico no diagnóstico de doenças aviárias, neste caso, mais especificamente, doenças hepáticas. A histopatologia é um exame complementar fundamental, capaz de fornecer um diagnóstico conclusivo em muitas doenças aviárias, além de ser uma técnica economicamente razoável e rápida. Contudo, para isso, é imprescindível o fornecimento de amostras adequadas (Dolka et al., 2012).

As alterações não infecciosas no presente estudo, foram as mais frequentes, representadas principalmente pelas alterações degenerativas e metabólicas. Em estudos de diferentes países com aves domésticas, as doenças infecciosas foram mais frequentes, como relatado para aves de subsistência em países como Canadá (Brochu et al., 2019), Estados Unidos (Mete et al., 2013; Crespo e Senties-Cue, 2015; Cadmus et al., 2019), Finlândia (Pohjola, et al., 2015), além de galinhas poedeiras comerciais na Dinamarca (Stokholm et al., 2010), Suécia (Fossum et al., 2009), Suíça (Kaufmann-Bart e Hoop, 2009) e em matrizes pesadas criadas na Dinamarca (Thøfner et al., 2019). Contudo, vale ressaltar que estes estudos envolveram todas as causas de mortalidade e todos os sistemas anatômicos, além do sistema hepático-biliar. Além disso, a maioria desses

estudos agruparam as doenças por etiologias, não classificando por sistemas. Visto a ausência de estudos específicos, os trabalhos anteriormente citados, dentre outros, foram utilizados como comparativo para os dados aqui encontrados, quando pertinente.

A menor ocorrência de doenças infecciosas em nosso estudo pode ser justificada pela maior quantidade de casos em aves da avicultura industrial, quando comparados com as aves de subsistência. Estas aves comerciais recebem maior acompanhamento veterinário e zootécnico, havendo assim reflexo na biossegurança e conseqüentemente na incidência de doenças, uma vez que veterinários atuam na prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças aviárias (Grunkemeyer, 2011). Uma realidade muitas vezes inversa daquela vista em algumas criações de aves de subsistência, onde a consultoria especializada é escassa e a biossegurança não é adequada, resultando no surgimento de doenças infecciosas (Almeida et al., 2020). É importante salientar, que a maior parte das amostras incluídas no presente estudo pertenciam a aves de criações localizadas em Minas Gerais. O estado se destaca tanto na produção e exportação de carne de frango, quanto na de ovos (ABPA, 2020), assim, a maioria destas aves pertencem a granjas com manejo sanitário adequado, visto a elevada produtividade das mesmas.

A maior proporção de aves da avicultura industrial no presente estudo se deve às amostras de frangos de corte e galinhas de postura que frequentemente são encaminhados para obtenção de diagnóstico. Em menor frequência, proprietários e/ou veterinários encaminham aves de subsistência para o serviço de diagnóstico. Segundo Brochu et al. (2019), para pequenos criadores de aves de subsistência, a distância dos laboratórios de diagnóstico, bem como o menor valor zootécnico da ave é levado em consideração nestes casos. Além disso, diferentemente de criações comerciais, muitos proprietários de aves de subsistência não têm assistência por veterinários, razão pela qual limita ainda mais o envio de aves e/ou amostras. Outra questão importante que contribui para a menor procura por centros de diagnóstico por alguns proprietários, é em relação a doenças de notificação obrigatória e risco de interdição da propriedade.

Das alterações degenerativas, o maior número dos casos foi associado a degeneração lipídica, e estes casos ocorreram mais frequentemente em frangos de corte. Vale ressaltar que, em aves de um modo geral, as concentrações de lipídeos no fígado são maiores, se comparadas a outras espécies (Cherian et al., 2002; Leeson, 2007). Sendo assim, deve-se ter cautela ao analisar fígados de aves com esta alteração. Nos frangos diagnosticados com lipidose, a alteração ocorreu principalmente em aves com idade acima de 30 dias. As alterações macroscópicas, como hepatomegalia, fígados difusamente amarelados e friáveis foram compatíveis com achados descritos previamente (Cullen e Stalker, 2016), bem como as lesões histológicas (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). Fígados amarelados condenados na linha de abate são submetidos com frequência para o exame histopatológico, no intuito de descartar causas tóxicas ou infecciosas. Em um estudo prévio com fígados condenados pelo serviço de inspeção de frigoríficos, alguns destes órgãos também foram diagnosticados exclusivamente com lipidose (Barcelos et al., 2006). Na ausência

de lesões que possam indicar causas tóxicas, como visto no presente estudo, a lipidose pode ser relacionada ao período de jejum pré-abate insuficiente ou relacionada a dietas com elevado teor de energia (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016), especialmente quando as fontes energéticas são proporcionalmente mais elevadas em relação a proteína e fibras, uma vez que nesta espécie, a capacidade de lipogênese é 20 vezes maior no fígado em comparação com o tecido adiposo (Alshamy et al., 2019, Zaefarian et al., 2019). Importante destacar que o significado da degeneração gordurosa e, conseqüente efeito na função do órgão, depende da causa e da gravidade do acúmulo de triglicérides nos hepatócitos (Barros, 2016). Em aves jovens (primeiros dias de vida) do presente estudo, o acúmulo de lipídeo nos hepatócitos foi atribuído a absorção da gema. De acordo com a literatura, nestes casos, normalmente há grande quantidade de gordura no fígado (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016), justificado pelo excesso de gordura e colesterol presentes na gema, considerada a fonte de alimento do pintinho em desenvolvimento (Entenman et al., 1940). O armazenamento de glicogênio no fígado é, também, uma alteração resultante de dieta com alto teor de carboidratos (Trampel et al., 2005, Zaefarian et al., 2019), a qual induz degeneração vacuolar no citoplasma dos hepatócitos, tornando o fígado vermelho- amarelado a esbranquiçado (Trampel et al., 2005). A diminuição da quantidade de glicogênio armazenado no fígado também ocorre durante o jejum pré-abate (Warris et al., 1993), período que contribui para a mobilização das reservas de glicogênio e lipídeo, resultando na cor vermelho- escura ao órgão. Fígado de aves não submetidas ao jejum pré abate são esbranquiçados ou amarelos e na linha de abate podem ser interpretados como anormais e condenados pelos inspetores (Trampel et al., 2005).

Em relação às galinhas poedeiras do presente estudo, diagnosticadas com lipidose, estudos discutem diferenças relacionadas ao metabolismo. Em períodos de alta produção estas aves consomem dietas com níveis maiores de energia, podendo predispor a lipidose hepática (Leeson, 2007). Durante a fase de produção de ovos, a lipogênese no fígado é elevada e ativa, em decorrência do alto nível de secreção de estrogênio (Hermier, 1997). Este hormônio estimula a produção de vitelogenina pelos hepatócitos, uma lipoproteína transportada para os ovários para a composição da gema. A falta de exercício devido a restrição de espaço nas gaiolas em combinação com alimento altamente energético foi também relacionada a lipidose hepática (Zaefarian et al., 2019). Em poedeiras, uma importante doença que cursa com lipidose é a síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico. Nesta doença, além da degeneração gordurosa, frequentemente há ruptura e hemorragia hepática (Trott et al., 2014), diferentemente da maior parte dos casos aqui descritos.

A síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico foi diagnosticada somente em três galinhas de postura. Diferentemente do presente estudo, ao avaliar causas de mortalidade em galinhas de subsistência na Califórnia, Mete et al. (2013) observaram que a doença foi a principal causa de mortalidade dentre as causas não infecciosas. Em outro estudo realizado por Crespo e Senties-Cue (2015), também foram diagnosticadas aves de subsistência com esta síndrome em

dois centros de diagnóstico, representando 5,1% e 1,8% dos casos, respectivamente. As aves do presente banco de dados tinham 46 semanas de idade, e estavam em período de alta produção de ovos, similar ao constatado por Trott et al. (2014). Em nosso estudo, a condição corporal destas aves não foi informada; contudo, normalmente, esta síndrome acomete aves obesas ou com sobrepeso (Mete et al., 2013; Trott et al., 2014; Crespo e Senties-Cue, 2015). Além da condição nutricional, outros fatores também são associados, como genéticos, hormonais e ambientais (Squires e Leeson, 1988; Hansen e Walzem, 1993). É importante que ao diagnosticar esta síndrome seja feita uma avaliação minuciosa em busca da possível causa envolvida, visto se tratar de uma doença que ocasiona mortalidade em poedeiras.

Amiloidose foi a doença metabólica mais frequente neste estudo e a maioria ocorreram em galinhas de postura. Em 19 casos, a doença foi atribuída ao tipo e frequência de vacinas administradas a estas aves, incluindo vacinas comerciais e autógenas contra salmonelose e coriza infecciosa via intramuscular. Recentemente, pesquisadores tem relatado surtos de amiloidose decorrentes de vacinação em galinhas de postura (Murakami et al., 2013b; Ibi et al., 2015; Carnaccini et al., 2016) e em matrizes pesadas (Tracy et al., 2021), incluindo vacinas contra salmonelose (Murakami et al., 2013a; Tracy et al., 2021), autógenas e comerciais (Tracy et al., 2021). Ao investigar a origem das vacinas, Tracy et al. (2021) constataram que uma única empresa forneceu vacinas comerciais que foram utilizadas em diferentes granjas, as quais tiveram aves com quadros de amiloidose. Em nosso estudo, as aves pertenciam a uma mesma granja, e ambos os lotes examinados receberam as mesmas vacinas citadas acima. A relação com a vacinação foi justificada pela identificação de depósitos de amiloide na musculatura (local de aplicação das vacinas), além do fígado e baço. A deposição de amiloide nestes órgãos pode ter sido induzida indiretamente pela estimulação inflamatória persistente no local da vacinação e/ou pela absorção dos antígenos na circulação (Carnaccini et al., 2016). Contudo, para melhor entendimento e confirmação da relação com o tipo e via de aplicação das vacinas, maiores investigações são necessárias. A linhagem das aves acometidas em nosso estudo era Lohmann branca. Carnaccini et al. (2016) também relataram surtos de amiloidose em galinhas Lohmann. Em um estudo experimental, Habibi et al. (2017) relataram quadros de amiloide em poedeiras desta mesma linhagem. Contudo, novos estudos experimentais envolvendo esta e outras linhagens são necessários afim de esclarecer uma possível predisposição.

Os achados anátomo-histopatológicos relatados em nossos casos foram compatíveis com aqueles já descritos na literatura (Murakami et al., 2013b; Ibi et al., 2015; Carnaccini et al., 2016; Tracy et al., 2021). Como observado nas aves do presente estudo, lotes acometidos frequentemente apresentam aumento na mortalidade (Murakami et al., 2013b; Carnaccini et al., 2016; Tracy et al., 2021), devido a intensidade das lesões hepáticas (Ibi et al., 2015). Aparentemente, a deposição de amiloide em aves parece regredir (Ibi et al., 2015), similar aos resultados obtidos no presente estudo em um lote de aves examinado novamente sete meses após

o surto, com diagnóstico negativo para amiloidose. Para um melhor conhecimento sobre a mobilização dos depósitos de amiloide do fígado, estudos adicionais são necessários, acompanhando todo o período de produção das aves acometidas. Mediante as alterações macroscópicas e histológicas encontradas nestas aves, uma doença que deve ser incluída no diagnóstico diferencial é a hepatite E aviária. Contudo, nesta doença, além de observar deposição de material semelhante a amiloide (Billam et al., 2005), há frequentemente flebite, periflebite e necrose fibrinoide (Billam et al., 2009), os quais não foram descritos nas aves do presente estudo. Além disso, a deposição de amiloide foi confirmada pela coloração histoquímica de vermelho congo e por microscopia eletrônica. Os outros três casos incluídos neste estudo ocorreram em galinhas de subsistência. Nestas aves, além da amiloidose, havia outras alterações, tais como enterite necrosante, esplenite fibrinosa, endocardite valvar, miocardite linfo-histiocitária e heterofílica com fibrose, osteomielite com tendinite necro-heterofílica e granulomatosa, e glomerulonefrite membranoproliferativa. Com isso, nestas aves a amiloidose foi atribuída a estes outros achados, uma vez que doenças crônicas também promovem a hiperestimulação do sistema imunológico (Cowan, 1968; Dias e Montau, 1994; Landman e Gielkens, 1998), induzindo assim quadros de amiloidose. Além disso, diferentemente das galinhas de postura, é pouco provável que estas aves tenham sido submetidas a múltiplas vacinações. Amiloidose não foi diagnosticada nos frangos de corte incluídos neste estudo e, possivelmente, há relação com o abate precoce dessas aves (Murakami et al., 2014).

Hemossiderose foi diagnosticada em oito aves do presente estudo e, destas, seis eram aves de subsistência e duas eram galinhas de postura. Na literatura, são raras as pesquisas envolvendo aves domésticas e hemossiderose. Algumas espécies aviárias parecem ser mais predispostas, como descrito por Wadsworth et al. (1983) e Cork et al. (1995). Além disso, em aves, a hemossiderose hepática parece ser mais associada àquelas que estiveram em cativeiro por muitos anos (Wadsworth et al., 1983), o que pode justificar os poucos casos aqui relatados. Em aves, o ferro é comumente encontrado no fígado, podendo ser um achado concomitante a doenças infecciosas e não infecciosas (Cork et al., 1995), como em casos de neoplasias hepáticas (Wadsworth et al., 1983; Hill et al., 1986) e intoxicação por chumbo (Abdul-Aziz e Fletcher., 2016; Sobhakumari et al., 2018). Em nosso estudo, outras alterações como glomerulonefrite, enterite, fígado cardíaco e hepatopatia tóxica hemorrágica também foram observadas em algumas destas aves, podendo estas ter relação com a hemossiderose. Em aves, estudos correlacionando hemossiderose e doenças concomitantes são necessários.

A intoxicação por chumbo não pode ser descartada nas aves de subsistência do presente estudo, uma vez que análises toxicológicas não foram realizadas, embora lesões compatíveis com a intoxicação não foram visualizadas. Quadros de intoxicação pelo metal foram recentemente relatados em aves selvagens (Manning et al., 2019) e de subsistência (Bautista et al., 2014; Sobhakumari et al., 2018; Cadmus et al., 2019), incluindo casos em Minas Gerais, onde o

composto foi detectado em ovos de galinhas de subsistência (Martins et al., 2010). Além do fígado, hemossiderina também estava presente em baços de cinco aves do presente estudo, corroborando com os achados de Wadsworth et al. (1983), os quais constataram hemossiderina em fígados e na maioria dos baços das mesmas aves. O uso em excesso de aminoácidos, como metionina, foi descrito como causa de toxicidade em aves de produção, e nestes casos, quadros indicativos de hemossiderose esplênica podem ser observados (Harter e Baker, 1978; Dilger et al., 2007).

Hepatopatia úrica foi diagnosticada em três aves de subsistência. Além do fígado, deposição de urato foram também visualizadas em outros tecidos dessas aves, como baço, rins, pericárdio e articulações. Frequentemente são descritos casos com envolvimento de múltiplos órgãos (Mir et al., 2005; Mudasir et al., 2017; Crespo e Shivaprasad, 2013). Apesar de não ter sido observada em galinhas poedeiras de nosso estudo, surtos da doença já foram relatados nestas aves (Feizi et al., 2012; Chirayath 2014; Mudasir et al., 2017). A doença pode ser relacionada a fatores nutricionais, metabólicos, infecciosos, dentre outros (Crespo e Shivaprasad, 2013). Nesse estudo, visto a ausência de lesões indicativas de processo infecciosos e/ou tóxicos, sugere-se a restrição hídrica ou desequilíbrio na dieta (excesso de proteína) como fatores determinantes. A restrição hídrica pode diminuir a excreção de urina e conseqüentemente de urato (Crespo e Shivaprasad, 2013). Diferentemente de aves comerciais, em algumas situações, as aves de subsistência não recebem uma dieta com avaliação dos componentes nutricionais para formulação da ração a ser fornecida. Surto da doença atribuído ao desequilíbrio na dieta já foi relatado anteriormente em aves (Mir et al., 2005).

Alterações hepáticas relacionadas a toxicoses em frangos de corte foram principalmente de caráter agudo no presente estudo. Estas lesões foram atribuídas principalmente a intoxicação por micotoxinas, como os tricotecenos. Necrose e hemorragia hepática, associadas a proliferação de ductos são achados comuns nestes casos, em associação com necrose da mucosa do ventrículo, proventrículo e intestino (Hoerr, 2020). Em quatro aves de nosso estudo, macroscopicamente, foram observadas áreas de ulceração da membrana coelina, caracterizadas por áreas de necrose compatível com causa tóxica ou não infecciosa na histopatologia. Para Hoerr (2020), a toxicidade pode interferir no peso corporal das aves acometidas, e tal fato pode estar relacionado a desuniformidade relatada em alguns lotes das aves avaliadas no presente caso. Na intoxicação por fumonisina B1, há necrose hepática multifocal e hiperplasia hepatocelular e biliar (Ledoux et al., 1992; Shlosberg, 2008), assim, podendo ser incluída na lista de diagnósticos diferenciais. A análise da dieta fornecida a estes animais contribuiria para o diagnóstico definitivo nestes casos.

Nas galinhas de postura, as lesões macroscópicas e histológicas envolvendo o fígado e os rins em um lote de aves foram associadas a intoxicação crônica por micotoxinas, possivelmente aflatoxina. Nesta intoxicação, frequentemente o fígado está diminuído de volume e firme, com vesícula biliar distendida (Hoerr, 2020). Há degeneração gordurosa e necrose de hepatócitos,

proliferação de ductos biliares e fibrose (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016; Hoerr, 2020). Além disso, em casos crônicos, pode ocorrer hidropericárdio e lesões renais (Hoerr, 2020), os quais também foram descritos nas aves deste estudo incluídas no grupo de hepatopatias crônicas. Apesar das alterações serem compatíveis, na análise toxicológica dos fígados das cinco galinhas de postura, não foi detectada a presença de toxinas. Contudo, em vista do tipo e cronicidade das lesões hepáticas, esta associação não pode ser descartada, uma vez que não foi possível analisar a ração fornecida a estas aves, o que poderia contribuir para a confirmação do diagnóstico. Intoxicação por aflatoxinas foi descrita em frangos de corte, com interferência no crescimento das aves acometidas (Fowler et al., 2015). Fibrose hepática, degeneração gordurosa, necrose, hemorragia e proliferação de ductos também são descritos em aves intoxicadas por plantas que contêm alcaloides pirrolizidínicos (Pereira et al., 2011), as quais devem ser incluídos no diagnóstico diferencial, caso as aves tenham contato com alimento com evidência de contaminação por sementes dessas plantas (*Crotalaria* sp.).

As doenças neoplásicas foram pouco frequentes no presente estudo, possivelmente pela menor quantidade de aves de vida longa, particularmente as de subsistência. Destes seis casos, cinco foram associados a agentes virais, sendo três atribuídos ao vírus da leucose aviária (VLA), envolvendo duas aves de subsistência e uma galinha de postura; e dois casos atribuídos ao vírus da doença de Marek (VDM), diagnosticados em aves de subsistência. Neoplasias linfoproliferativas em aves são frequentemente de origem viral, resultante de infecção pelo vírus da doença de Marek, vírus da leucose aviária, ou vírus da reticuloendoteliose aviária (Cadmus et al., 2019). Tal fato reforça o menor número de diagnósticos obtidos em aves comerciais, uma vez que estas aves são vacinadas contra a doença de Marek e há monitoria constante para o vírus da leucose aviária na criação de matrizes leves e pesadas. Segundo Nair (2020), com a introdução da vacinação, a doença de Marek vem apresentando diminuição em lotes nos Estados Unidos. Contudo, ainda assim, como observado no nosso estudo, casos destas doenças são relatados na avicultura industrial, inclusive em coinfeção (Wen et al., 2018; Liu et al., 2019). Um estudo recente realizado no Brasil, mais especificamente em Minas Gerais, sobre a doença de Marek, demonstrou a presença de estirpes virais virulentas, tanto em aves comerciais, quanto em aves de subsistência (Torres et al., 2019). Em outro estudo, também realizado no Brasil, Chacón et al. (2019) detectaram coinfeção pelo vírus da doença de Marek e vírus da reticuloendoteliose aviária em aves de subsistência. Desta forma, é fundamental educar e informar proprietários de aves de subsistência sobre a importância da vacinação de aves incubadas e nascidas na propriedade, quanto da aquisição de pintinhos vacinados (Cadmus et al., 2019).

Segundo Nair (2020), a doença de Marek acomete preferencialmente aves jovens, podendo haver envolvimento dos nervos e/ou a presença de tumores viscerais. Em contrapartida, uma das aves era uma adulta, de 47 semanas. Nesta ave, havia tanto a infiltração tumoral em órgãos viscerais, quanto nos nervos ciáticos e braquiais, evidenciado pela histopatologia. Este

achado é um importante diferencial da leucose aviária, uma vez que nesta não há o envolvimento de nervos (Nair, 2020). Corroborando com outros estudos, em três aves, além do fígado, outros tecidos também foram acometidos, tais como baço, pulmão, rins, pro-ventrículo, traqueia (Swathi et al., 2012; Chacón et al., 2019), intestino (Chacón et al., 2019), além do oviduto e da bursa de Fabricius. Houve apenas um diagnóstico de neoplasia hepática primária, caracterizado como adenoma hepatocelular. Tal fato pode ser justificado pela baixa ocorrência destes tumores em aves domésticas (Abdul-Aziz e Fletcher, 2016; Williams et al., 2020). A histopatologia de rotina, associada a técnica de imuno-histoquímica possibilitaram o diagnóstico definitivo.

Salmonella spp. foi o principal agente bacteriano diagnosticado em galinhas poedeiras e de subsistência. Apesar de não ter sido relatada nos frangos de corte, estas aves também podem ser acometidas por esta bactéria (Rezende et al., 2008). Mediante as lesões encontradas, juntamente com os dados epidemiológicos e laboratoriais, todos os casos foram associados a salmonelose tífica. Além disso, em 13 casos a sorotipificação confirmou o biovar Gallinarum, em aves variando de oito a 77 semanas, corroborando com Shivaprasad (2000), o qual associa este biovar a aves adultas. Mesmo na ausência de sorotipificação, os demais casos também foram atribuídos a *Salmonella* Gallinarum, devido a idade das aves acometidas (39 semanas). Nestas aves, hepatomegalia foi um achado frequente, bem como alteração na cor, variando de avermelhado, esverdeado a acobreado. Alguns achados macroscópicos são inespecíficos, sendo também descritos em casos de hepatite por *Escherichia coli*, como a hepatomegalia com múltiplos focos milimétricos de necrose (Barcelos et al., 2006; Silva et al., 2012; Casagrande et al., 2017). Contudo, a associação das lesões hepáticas com lesões em outros órgãos pode ser indicativa da infecção por *Salmonella* spp. Nas aves do presente estudo, além das lesões hepáticas, foram observadas outras alterações como esplenomegalia (Shivaprasad, 2000; Freitas Neto et al., 2007), miocardite (Shivaprasad, 2000; Freitas Neto et al., 2007) e ooforite (Dutta et al., 2015). Os principais achados histopatológicos foram hepatite fibrinonecrótica e histiocitária, além de esplenite com necrose fibrinoide vascular. Necrose de coagulação comumente é descrita nestes casos, além de necrose fibrinoide na parede vascular (Shivaprasad, 2000; Garcia et al., 2013).

Estreptococose foi diagnosticada em 11 aves deste estudo, sendo sete frangos de corte e quatro galinhas poedeiras. *Streptococcus gallolyticus* foi identificado em sete aves. Surtos associados a infecção por *Streptococcus* spp. já foram relatados em aves domésticas (Chadfield et al., 2007; Bisgaard et al., 2012). No presente estudo, as lesões macroscópicas e histopatológicas foram variadas, havia hepatomegalia, e microscopicamente, focos de necrose, associados com bactérias (cocos) intralésionais em quase todos os casos, corroborando com os achados descritos por Chadfield et al. (2007) e Borst (2020). Colângio-hepatite aguda associada a bactérias gram positivas como morfologia de cocos foi diagnosticada em duas galinhas de postura. Em outros estudos, lesão similar foi associada a bactérias, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. (Barcelos et al., 2006) e *Clostridium perfringens* (Lovland et al., 1999).

Colibacilose foi relatada em frangos de corte, galinhas de postura e aves de subsistência. Em alguns estudos previamente descritos, *Escherichia coli* foi a bactéria mais relacionada a mortalidade, tanto em aves de subsistência (Mete et al., 2013; Crespo e Senties-Cue 2015; Brochu et al., 2019; Thøfner et al., 2019), quanto em aves comerciais (Stokholm et al., 2010; Olsen et al., 2012), além de ser frequentemente associada a fígados condenados no abate (Barcelos et al., 2006; Silva et al., 2012; Casagrande et al., 2017). Nesse estudo, a maioria das aves diagnosticadas com colibacilose eram jovens, com poucos dias de vida. Contudo, aves adultas também são acometidas, conforme descrito por Rahman et al. (2004). Em algumas das aves aqui relatadas, além de lesões hepáticas, havia inflamação no saco da gema, podendo indicar propagação da bactéria para o fígado e outros órgãos (Nolan et al., 2020). Nestes casos, corroborando com Vandekerchove et al., (2004) e Mokady et al. (2005), possivelmente a infecção do saco vitelino ocorreu *in ovo*, como consequência de salpingite nas galinhas ou pela contaminação do incubatório. Hepatomegalia e peri-hepatite fibrinosa (Nolan et al., 2020), foram os principais achados macroscópicos nestas aves. Na histopatologia, havia principalmente peri-hepatite fibrinosa, corroborando com Barcelos et al., (2006), o qual relacionou estas alterações a *E.coli*. Além desta alteração, Barcelos et al. (2006) descreveram pericolangite e hepatite necrótica, descritas também por Casagrande et al. (2017) em fígados de frangos condenados no abate, cuja lesão foi observada em uma das aves do presente estudo. Outras lesões encontradas, como esplenite, pericardite e aerossaculite, foram também descritas em estudo prévio (Casagrande et al., 2017). Neste estudo, a maior parte das amostras encaminhadas para diagnóstico foram enviadas em formol, impossibilitando a realização de exame bacteriológico. Visto a similaridade das lesões tanto macroscópicas, quanto histopatológicas, não foi possível definir o diagnóstico etiológico em muitos casos. Contudo, associando os achados anátomo-histopatológicos com a epidemiologia, sinais clínicos e idade das aves, a maioria destes foram relacionados a infecção por *Samonella enterica* ou *E. coli*.

As hepatites virais em nosso estudo foram diagnosticadas em matrizes pesadas, com ausência de casos em aves de subsistência. Em outros estudos envolvendo aves de subsistência, as doenças virais representaram 7% (Cadmus et al., 2019) e 30% (Mete et al., 2013) dos diagnósticos. Os casos envolvendo matrizes pesadas diagnosticados como hepatite por corpúsculo de inclusão (HCI), ocorreram em aves de 21 dias de idade, corroborando com achados já descritos na literatura. De acordo com Fitzgerald (2020), a doença tem sido relatada em aves jovens, especialmente em frangos de corte. Nakamura et al. (2011) relataram um surto da doença no Japão, em frangos de corte na faixa etária de um a 47 dias. As aves podem desenvolver estado de portador do agente, e não apresentar sinais de doença, tornando-se uma fonte importante de transmissão para o plantel ou prole (Yugo et al., 2016). Nesse estudo, foi relatado atraso no desenvolvimento das aves, além de taxa de mortalidade elevada, de 1,2% e 4,5%, dados estes compatíveis com outros estudos (Nakamura et al., 2011), cujas taxas de mortalidade variaram de

1,2% a 17%. Como observado nos casos aqui relatados, as alterações hepáticas são os principais achados de necropsia, incluindo hepatomeglia (Nakamura et al., 2011; Rahimi e Haghghi, 2015; Fitzgerald, 2020) e alterações na coloração, como fígado amarelado (Rahimi e Haghghi, 2015) e pálido (Nakamura et al., 2011). Fígado friável, com focos de necrose e hemorragia também pode ser encontrado (Rahimi e Haghghi, 2015). Outra alteração macroscópica encontradas nas aves do presente estudo foi a palidez da medula óssea. Em nosso estudo, esta alteração foi associada e confirmada por exame molecular, como consequência de coinfeção pelo vírus da anemia infecciosa das galinhas, a qual já foi relatada em outros estudos (Toro et al., 1999; Toro et al., 2000). Quanto aos achados microscópicos, hepatite necrótica associada a corpúsculos intranucleares basofílicos e por vezes eosinofílicos, são achados consistentes com a HCI (Itakura et al., 1974; Nakamura et al., 2011; Abdul-Aziz e Fletcher, 2016). A predominância de corpúsculos basofílicos, pode indicar infecção severa e rápida das aves acometidas (Nakamura et al., 2011). Surtos da doença já foram documentados em diversos países, incluindo o Brasil (Schachner et al., 2018). Em Minas Gerais, o genoma FadV- D foi detectado em amostras de fígados de poedeiras, frangos de corte, matriz pesada e aves caipiras (Pereira et al., 2014). Estes estudos, juntamente com os casos aqui descritos, devem servir como alerta a produtores de aves comerciais, uma vez que evidenciam a presença do vírus no plantel nacional.

Hepatites protozoárias no presente estudo foram as menos frequentes, com diagnósticos em aves de subsistência, sendo estas diagnosticadas como histomoníase. Com base na literatura, a maioria dos relatos desta doença envolvem aves de subsistência (Brener et al., 2006; Mete et al., 2013; Silva et al., 2014; Araújo et al., 2015; Hauck et al., 2018; Brochu et al., 2019; Cadmus et al., 2019). Segundo Pollock et al. (2012) e Derksen et al. (2018), em muitas situações, a criação destas aves torna-se desafiadora para pequenos produtores, havendo muitas limitações. Em decorrência a estes desafios, doenças que poderiam ser evitadas são frequentemente diagnosticadas nestas aves. Contudo, há também, relatos envolvendo criações comerciais como perus de corte e reprodutores (Hauck et al., 2018), bem como poedeiras de criações alternativas (Stokholm et al., 2010). Para Liu et al. (2018), surtos de histomoníase podem ser relacionados a estes métodos alternativos na criação de aves, além do uso controlado ou restrito de medicamentos. No presente estudo, em duas aves, a idade era de quatro semanas, as quais parecem ser mais susceptíveis, embora há relatos em aves adultas (Lund e Chute, 1972). Estas aves conviviam com patos, gansos e galinhas d'angola. Estudos envolvendo patos (Lund et al., 1974; Callait-Cardinal, et al., 2006), gansos (Lund et al., 1974) e galinhas d'angola (Chute e Lund, 1972; McDougald, 2005) já foram relatados anteriormente, evidenciando a susceptibilidade destas aves quanto ao *Histomonas meleagridis*. Em muitos casos, a presença de múltiplas espécies aviárias na mesma propriedade facilita a disseminação interespecie, havendo possibilidade de mutação e recombinação genética de agentes (Almeida et al., 2020). Um estudo experimental realizado por Chute e Lund (1972) com galinhas d'angola, mostrou uma maior resistência destas

aves, havendo lesões hepáticas menos frequentes, se comparadas as lesões no ceco (tiflite), as quais foram mais graves. Tiflite necrótica também foi um achado comum em duas aves do presente estudo, corroborando com Hauck et al. (2018), que relatam a ocorrência de quadros de hepatite e tiflite necrótica. Nas aves do nosso estudo, não foi identificada infecção pelo parasita *Heterakis gallinarum*, o qual é frequente em aves de subsistência (Siqueira e Marques, 2016; Boroviec et al. 2020) e intimamente associado a histomoníase (Sentíes-Cué et al., 2009). A ausência de evidências de *H. gallinarum* foi relatada em outros estudos, incluindo outras aves, como pavões (Clarke et al., 2017). Nestes casos, uma investigação minuciosa é necessária, uma vez que outros agentes possam estar presentes, e envolvidos na patogênese da doença, como o *Tetratrichomonas gallinarum*. Contudo estudos adicionais são necessários para elucidar o papel destes agentes (Clarke et al., 2017). Além disso, sabe-se que as mudanças ocasionadas no ceco após infecção por *H. meleagridis* proporcionam um ambiente inadequado para *H. gallinarum* (Lund e Chute, 1972; Tompkins et al., 2001). Vale ressaltar que existem outras formas de infecção, como ingestão de insetos, através da manipulação humana, dentre outras (McDougald, 2005), e estas não podem ser descartadas nos casos do presente estudo.

Limitações do presente estudo podem ser relacionadas com a representatividade da amostragem de órgãos recebidos para histopatologia, devido a falta de coleta de todos os órgãos para exame, diminuindo a sensibilidade do teste histopatológico. Além disso, houve menor frequência da coleta de amostras resfriadas para possibilitar a realização conjunta de exames bacteriológicos.

6. CONCLUSÕES

As alterações não infecciosas foram as mais frequentes neste estudo, com destaque para as degenerativas em frangos de corte, e para as doenças metabólicas nas galinhas de postura e nas aves de subsistência;

A amiloidose representa uma doença metabólica com manifestação atual na forma de surtos na avicultura de postura, com evidências de perda econômica devido a mortalidade. Questões sobre o fator desencadeador que causa a hiperestimulação do sistema imune como por exemplo, o tipo de vacina, e o tempo de permanência dos depósitos de amiloide no fígado, ainda permanecem abertas;

Das causas infecciosas, as doenças bacterianas, incluindo a salmonelose, foram mais frequentes em nosso estudo. Algumas dessas bactérias que causam hepatite em aves possuem importância nesses plantéis e na inspeção sanitária desse órgão para o consumo;

Exames auxiliares, como bacteriológico, são fundamentais para confirmação da etiologia nos casos de hepatites bacterianas, uma vez que em algumas infecções os achados histopatológicos podem ser semelhantes.

A histopatologia possibilita relacionar a etiologia com as lesões correspondentes (causa e efeito), sendo assim, este exame deve ser incluído na lista de exames essenciais por veterinários de granjas, frigoríficos de aves e pequenos criadores de aves de subsistência;

Por fim, os resultados desse estudo propiciam um parâmetro sobre as principais doenças hepáticas que acometem frangos de corte, galinhas de postura e aves de subsistência, fornecendo evidências para reforço nas medidas de prevenção contra doenças infecciosas e não infecciosas nessas criações.

7. REFERÊNCIAS

ABDUL-AZIZ, T.; FLETCHER, O. J. Hepatobiliary System. In: ABDUL-AZIZ, T.; FLETCHER, O. J.; BARNES, H. J. (Eds.) *Avian histopathology*. 4. ed. Madison, WI: American Association of Avian Pathologists, Omni Press, 2016. p. 355-421.

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2020. São Paulo: ABPA, 2020.

ABREU, D. L. C.; SANTOS, F. F.; JOSÉ, D. S.; TORTELLY, R.; NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A. Pathological aspects of a subclinical marek's disease case in free-range chickens. *ver. Bras. de Ciênc. Avíc.*, v. 18, n. 1, p. 197-200, 2016.

ADEDEJI, A. J.; AKANBI, O. B.; LUKA, P. D. Natural outbreak of Marek's disease in indigenous chicken and Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) in Jos, Plateau State, Nigeria. *Open Vet Jv*. 9, n. 2, p. 151-156, 2019.

AHMED, H.; MAYS, J.; KIUPEL, M.; DUNN, J. R. Development of reliable techniques for the differential diagnosis of avian tumour viruses by immunohistochemistry and polymerase chain reaction from formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections. *Avian Pathol.*, v. 47, n. 4, p. 364-374, 2018.

ALMEIDA, P. C.; BORGES, P. R. S.; KOERICH, P. K.; MELO, R. T.; BATISTA, I. A.; MENDONÇA, E. P.; SILVA, R. R.; SILVA, L. K.; FONSECA, B. B. Circulation of immunosuppressive viruses and avian encephalomyelitis virus in backyard chicken flocks. *Adv Microbiol.*, v.10, n. 5, p. 203-213, 2020.

ALSHAMY, Z.; RICHARDSON, K. C.; HARASH, G.; HÜNIGEN, H.; RÖHE, I.; HAFEZ, H. M.; PLENDL, J.; AL MASRI, S. Structure and age-dependent growth of the chicken liver together with liver fat quantification: A comparison between a dual-purpose and a broiler chicken line. *PLoS One*. v.14, n. 12, 1-18, 2019.

ARAÚJO, J. L.; OLINDA, R. G.; FRADE, M. T. S.; MAIA, L. Â.; DANTAS, A. F. M. Surto de histomoníase em frangos caipiras no semiárido da Paraíba, Brasil. *Semina: Ciênc. Agr.*, v. 36. n. 1, p. 307-312, 2015.

BARCELOS, A. S.; FLÔRES, M. L.; KOMMERS, G. D.; NASCIMENTO, V. P.; SEGABINAZI, S. D.; ANTONIAZZI, T.; BASSAN, J. D. L. Macroscopia, histopatologia e

bacteriologia de fígados de frangos (*Gallus gallus*) condenados no abate. *Ciênc. Rural*. v. 36, n. 2, p. 561-567, 2006.

BARROS, C. S. L. Fígado, Vias Biliares e Pâncreas Exócrino. In: SANTOS, R. L. e ALESSI, A. C. (Eds.) *Patologia Veterinária*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Roca. 2016. p.181-266.

BARROW, P. A.; FREITAS NETO, O. C. Pullorum disease and fowl typhoid—new thoughts on old diseases: a review. *Avian Pathol.*, v. 40, n. 1, p. 1-13, 2011.

BAUTISTA, A. C.; PUSCHNER, B.; POPPENG, R. H. Lead exposure from backyard chicken eggs: a public health risk? *J Med Toxicol.*, v. 10, n. 3, p. 311-315, 2014.

BATISTA, D. F. A.; FREITAS NETO, O. C.; ALMEIDA, A. M.; BARROW, P. A.; BARBOSA F. O.; BERCHIERI JUNIOR, A. Molecular identification of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum biovars Gallinarum and Pullorum by a duplex PCR assay. *J Vet Diagn Investi*. 2016; v. 28, n. 4, p. 419-422, 2016.

BERCHIERI JUNIOR, A.; MURPHY, C. K.; MARSTON, K.; BARROW, P. A. Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens effect of bacterial and host genetic background. *Avian Pathol*, v. 30, n. 3, p. 221-231, 2001.

BERCHIERI JUNIOR, A.; OLIVEIRA, G. H.; PINHEIRO, L. A. S.; BARROW, P. A. Experimental *Salmonella* Gallinarum infection in light laying hen lines. *Braz. J. Microbiol.*, v. 31, n. 1, p.50-52, 2000.

BERNARDI, R. *Problemas locomotores em frangos de corte*. 2011. 62f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.

BIFFI, C. P.; SAVARIS, T.; PARIZOTO, L. H.; OGLIARI, D.; BORELI, V.; EMMERICH, T.; GARDNER, D. GAVA, A. Experimental poisoning in broiler chickens by *Senecio vernonioides*, *Senecio conyzaeifolius* and *Senecio paulensis*. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 38, n. 11, p. 2065-2069, 2018.

BILLAM, P.; HUANG, F. F.; SUN, Z. F.; PIERSON, F. W.; DUNCAN, R. B.; ELVINGER, F.; GUENETTE, D. K.; TOTH, T. E.; MENG, X. J. Systematic pathogenesis and replication of avian hepatitis E virus in specific-pathogen-free adult chickens. *J Virol* v. 79, n. 6, p. 3429-3437, 2005.

BILLAM, P.; LEROITH, T.; PUDUPAKAM, R. S.; PIERSON, F. W.; DUNCAN, R. B.; MENG, X. J. Comparative pathogenesis in specific-pathogen-free chickens of two strains of avian hepatitis E virus recovered from a chicken with Hepatitis-Splenomegaly syndrome and from a clinically healthy chicken. *Vet Microbiol.*, v. 139, n. 3-4, p. 253-261, 2009.

BISGAARD, M.; BOJESEN, A. M.; PETERSEN, M. R.; CHRISTENSEN, H. A major outbreak of *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* infections in free range chickens is linked to horses. *Avian Dis.*, v. 56, n. 3, p. 561-566, 2012.

BLACKALL, P. J.; HOFACRE, C.L. Pasteurellosis and other respiratory bacterial infections. In: BOULIANE, M.; LOGUE, C. M.; MCDUGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ D. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 14th ed. Iowa: Wiley-Blackwell. 2020. p. 831-889.

BLUME, G. B.; CARDOSO, S. P.; OLIVEIRA, M. L. B.; MAZIOLLI, M. P.; GOMEZ, S. Y. M.; REIS Jr., J. L.; SANT'ANA, F. I. F.; MARTINS, N. R. S. Visceral Marek's disease in white peafowl (*Pavo cristatus*). *Arch Bras Med Vet Zootec.*, v. 68, n. 6, p. 1602-1608, 2016.

BOOM, R.; SOL, C. J.; SALIMANS, M. M.; JANSEN, C. L.; WERTHEIM-VAN DILLEN, P. M.; VAN DER NOORDAA, J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Jf Clin Microbiol.*, v. 28, n. 3, p. 495-503, 1990.

BORST, L. K. Other Bacterial Diseases. In: BOULIANE, M.; LOGUE, C. M.; MCDUGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ, D. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 14th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2020. p. 995-1085.

BRAGA, J. F. V.; SILVA, C. C.; TEIXEIRA, M. P. F.; MARTINS, N. R. S.; ECCO, R. Vertebral osteomyelitis associated with single and mixed bacterial infection in broilers. *Avian Pathol.*, v. 45, n. 6, p. 640-648, 2016.

BRASIL. Portaria nº 126, de 3 de novembro de 1995. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 6 nov. 1995, seção 1:17694-17698.

BRENER, B.; TORTELLY, R.; MENEZES, R. C.; MUNIZ-PEREIRA, L. C.; PINTO, R. M. Prevalence and pathology of the nematode *Heterakis gallinarum*, the trematode *Paratanaisia bragai*, and the protozoan *Histomonas meleagridis* in the turkey, *Meleagris gallopavo*. *Mem. Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 101, n. 6, p. 677-681, 2006.

BRICKER, J. M.; SAIF, Y. M. Other Bacterial Diseases. In: MCDUGALD, L. R.; SUAREZ, D. L.; NAIR, V. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 13th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2013. p. 971-1053.

BROCHU, N. M.; GUERIN, M. T.; VARGA, C.; LILLIE, B. N.; BRASH, M. L.; SUSTA, L. A two-year prospective study of small poultry flocks in Ontario, Canada, part 2: causes of morbidity and mortality. *J Vet Diagn Invest*, v. 31, n. 3, p. 336-442, 2019.

BOROVIEC, B. B.; GASPAROTTO, P. H. G.; FILHO, J. V. D.; PEIXOTO, R. M.; VIANA, G. A.; ROCHA, A. S. C. M.; DAUDT, C.; DA SILVA, F. R. C. Ocorrência de *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinarum* em galinha-d'angola (*Numida meleagris*) no estado de Rondônia, Brasil. *Acta Sci. Vet.*, v. 48, n. 1, p. 487, 2020.

CADMUS, K. J.; METE, A.; HARRIS, M.; ANDERSON, D.; DAVISON, S.; SATO, Y.; HELM, J.; BOGER, L.; ODANI, J.; FICKEN, M. D.; PABILONIA, K. L. Causes of mortality in backyard poultry in eight states in the United States. *J Vet Diagn Invest.*, v. 31, n. 3, p. 318-326, 2019.

CALLAIT-CARDINAL, M. P.; CHAUVE, C.; REYNAUD, M. C.; ALOGNINOUIWA, T.; ZENNER, L. Infectivity of *Histomonas meleagridis* in ducks. *Avian Pathol.*, v. 35, n. 02, p. 109-116, 2006.

CARDONA, C. J.; OSWALD, W. B.; SCHAT, K. A. Distribution of chicken anemia virus in the reproductive tissues of specific pathogen free chickens. *J. Gen. Virol.*, v.81, n.8, p. 2067-2075, 2000.

CARNACCINI, S.; SHIVAPRASAD, H. L.; CUTLER, G.; BLAND, M.; MENG, X. J.; KENNEY, S. P.; BICKFORD, A. A.; COOPER, G.; CHARLTON, B.; SENTÍES-CUÉ, C. G. Characterization of Seven Outbreaks of Hemorrhagic Hepatopathy Syndrome in Commercial Pullets Following the Administration of a *Salmonella* Enteritidis Bacterin in California. *Avian Dis.*, v. 60, n. 1, p. 33-42, 2016.

CASAGRANDE, R. A.; MACHADO, G.; GUERRA, P. R.; CASTRO, L. A.; SPANAMBERG, A.; SILVA, S. C.; CARDOSO, M. R. I.; DRIEMEIER, D. Caracterização anatomopatológica e bacteriológica em frangos de corte condenados totalmente por colibacilose sob Serviço de Inspeção Federal. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 37, n. 9, p. 949-957, 2017.

CELIS-ESTUPIÑAN, A. L.; D.F. BATISTA, M.V. CARDOZO, A.I. SECUNDO DE SOUZA, L.B. RODRIGUES ALVES, A.M. ALMEIDA, P.A. BARROW, A. BERCHIERI JUNIOR, O.C. FREITAS NETO. Further investigations on the epidemiology of fowl typhoid in Brazil. *Avian Pathol.*, n. 1, p. 1-31, 2017.

CHACÓN, R. D.; ASTOLFI-FEREIRA, C. S.; GUIMARES, M. B.; TORRES, L. N.; DE LA TORRE, D. I.; DE SÁ, L. R. M.; PIANTINO FEREIRA, A. J. Detection and molecular characterization of a natural coinfection of Marek's disease virus and reticuloendotheliosis virus in Brazilian backyard chicken flock. *Vet Sci.*, v. 6, n. 4, p. 92, 2019.

CHADFIELD, M. S.; CHRISTENSEN, J. P.; DECOSTERE, A.; CHRISTENSEN, H.; BISGAARD, M. Geno-and phenotypic diversity of avian isolates of *Streptococcus gallolyticus* ssp. *gallolyticus* (*Streptococcus bovis*) and associated diagnostic problems. *J. Clin. Microbiol.*, v. 45, n. 3, p. 822-827, 2007.

CHERIAN, G.; HOLSONBAKE, T. B.; GOEGER, M. P.; BILDFELL, R. Dietary CLA alters yolk and tissue FA composition and hepatic histopathology of laying hens. *Lipids*, v. 37, p. 751-757, 2002.

CHIRAYATH, D.; REJITHA, T. S. Visceral gout in poultry-a report. *Jour of Indian Vet Assoc. Kerala (JIVA)*, v.12, n. 2, p. 53-54, 2014.

CHRISTENSEN, J. P.; BOJESEN, A. M.; BISGAARD, M. Fowl cholera In: PATTISON, M.; MCMULLIN, P. F.; BRADBURY, J. M.; ALEXANDER, D. J. (Eds.) *Poultry Diseases*. 6th ed. Saunders Ltd.; 2008. p.149-154.

CHUTE, A. M.; LUND, E. E. Experimental histomoniasis in the Guinea fowl, *Numida meleagris*. *J. Protozool.*, v. 19, n. 4, p. 639-643, 1972.

CLARKE, L. L.; BECKSTEAD, R. B.; HAYES, J. R.; RISSI, D. R. Pathologic and molecular characterization of histomoniasis in peafowl (*Pavo cristatus*). *J. Vet. Diag. Invest.*, v. 29, n. 2, p. 237-241, 2017.

CORK, S. C.; ALLEY, M. R.; STOCKDALE, P. H. G. A quantitative assessment of haemosiderosis in wild and captive birds using image analysis. *Avian Pathol.*, v. 24, n. 2, p. 239-254, 1995.

COWAN, D. F. Avian amyloidosis. I. General incidence in zoo birds. *Pathol. Vet.*, v. 5, n. 1, p. 51-58, 1968.

- CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N. H. Acute phase response in animals: a review. *Comp. Med.*, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.
- CRESPO, R.; GARNER, M. M.; HOPKINS, S. G.; SHAN, D. Outbreak of *Listeria monocytogenes* in an urban poultry flock. *BMC Vet Res.*, v.11, n. 9, 2013.
- CRESPO, R.; SENTIES-CUE, G. Postmortem survey of disease conditions in backyard poultry. *J Exot Pet Med.*, v. 24, n. 2, p. 156-163, 2015.
- CRESPO, R.; SHIVAPRASAD, H. L. Developmental, metabolic, and other noninfectious disorders. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J.; GLISSON, J. R.; FADLEY, A. M.; MCDOUGALD, L. R.; SWAYNE, D. E. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 11th ed. Ames: Iowa State Press, 2003. p. 1055-1102.
- CRESPO, R.; SHIVAPRASAD, H. L. Developmental, metabolic, and other noninfectious disorders. In: MCDOUGALD, L. R.; SUAREZ, D. L.; NAIR, V. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 13th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2013, p. 1233- 1270.
- CRISPO, M.; SHIVAPRASAD, H. L.; COOPER, G. L.; BICKFORD, A. A.; STOUTE, S. T. Streptococcosis in Commercial and Noncommercial Avian Species in California: 95 Cases (2000–2017). *Avian dis.*, v. 62, n. 2, p. 152-162, 2018.
- CULLEN, J. M.; BROWN, D. L. Sistema hepatobiliar e pâncreas exócrino. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. (Eds.) *Bases da patologia em veterinária*. 5th ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 407-454.
- CULLEN, J. M.; STALKER, M. J. Liver and Biliary System. In: MAXIE, M. G. (Ed.) *Jubb, Kennedy, and Palmer's. Pathology of domestic animals*. 6th ed. vol. 2. Missouri: Elsevier, 2016, p. 258-352.
- DAVISON, A. J. Herpesvirus systematic. *Vet. Microbiol.*, v. 143, n. 1, p. 52-69, 2010.
- DENBOW, D. M. Gastrointestinal anatomy and physiology. In: SCANES, C. G. (Ed.) *Sturkie's Avian Physiology*, 6th ed., Academic Press, 2015, p. 337-366.
- DERKSEN, T.; LAMPRON, R.; HAUCK, R.; PITESKY, M.; GALLARDO, R. A. Biosecurity assessment and seroprevalence o respiratory diseases in backyard poultry flocks located close to and far from commercial premises. *Avian Dis.*, v. 62, n. 1, p. 1-5, 2018.
- DIAS, J. L. C.; MONTAU, R. J. Staphylococcosis in captive exotic waterfowl. *Avian Pathol.*, v. 23, n. 4, p. 659-669, 1994.
- DILGER, R. N.; KOBLER, C.; WECKBECKER, C.; HOEHLER, D.; BAKER, D. H. 2-keto-4-(methylthio) butyric acid (keto analog of methionine) is a safe and efficacious precursor of L-methionine in chicks. *J Nutr.*, v. 137, n. 8, p. 1868-1873, 2007.
- DOLKA, I.; SAPIERZYŃSKI, R.; BIELECKI, W.; MALICKA, E.; ZBIKOWSKI, A.; SZELESZCZUK, P. Histopathology in diagnosis of broiler chicken and layer diseases -review of cases 1999-2010. *Pol J Vet Sci.*, v. 15, n. 4, p. 773-779, 2012.

DUTTA, P.; BORAH, M. K.; GANGIL, R.; SINGATHIA, R. Gross/histopathological impact of *Salmonella* Gallinarum isolated from layer chickens in Jaipur and their antibiogram assay. *Int. J. Adv. Vet. Sci. Technol.*, v. 4, n. 1, p. 153-159, 2015.

ENTENMAN, C.; LORENZ, F. W.; CHAIKOFF, I. L. The lipid content of blood, liver, and yolk sac of the newly hatched chick and the changes that occur in these tissues during the first month of life. *J. Bio. Chem.*, v. 133, n. 1, p. 231-241, 1940.

ERIKSSON, H.; BAGGE, E.; BÅVERUD, V.; FELLSTRÖM, C.; JANSSON, D. S. *Erysipelothrix rhusiopathiae* contamination in the poultry house environment during erysipelas outbreaks in organic laying hen flocks. *Avian Pathol*, v. 43, n. 3, p231-237.

FAYER, R.; SANTIN, M.; PALMER, R.; LI, X. Detection of Encephalitozoon hellem in feces of experimentally infected chickens. *J. Eukaryot. Microbiol*, V. 50, p 574–575, 2003.

FEIZI, A.; HAGHIGAT, A.; TAIFEBAGERLU, J. Assessment of clinical and necropsy manifestation, losses and some biochemical factors in broiler breeder with gout syndrome. *J. Anim. Vet Adv.*, v. 11, n. 20, p. 3705-3708, 2012.

FITZGERALD, S. D. Adenovirus Infections. In: BOULIANE, M.; LOGUE, C. M.; MCDUGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ, D. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 14th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2020. p. 321-363.

FOSSUM, O.; JANSSON, D. S.; ETTERLIN, P. E.; VÅGSHOLM, I. Causes of mortality in laying hens in different housing systems in 2001 to 2004. *Acta Vet. Scand.*, v. 51, n. 1, p. 1-9, 2009.

FOWLER, J.; LI, W.; BAILEY, C. Effects of a calcium bentonite clay in diets containing aflatoxin when measuring liver residues of aflatoxin B1 in starter broiler chicks. *Toxins*, v. 7, n. 9, p. 3455-3464, 2015.

FREITAS NETO, O. C.; ARROYAVE, W.; ALESSI, A. C.; FAGLIARI, J. J.; BERCHIERI, A. Infection of commercial laying hens with *Salmonella* Gallinarum: clinical, anatomopathological and haematological studies. *Braz. J. Poult. Sci.*, v. 9, n. 2, p. 133-141, 2007.

GARCIA, K. O.; BERCHIERI JR, A.; SANTANA, A. M. et al. Experimental infection of commercial layers with wild or attenuated *Salmonella* Gallinarum mutante strains: anatomic pathology, total blood cell count and serum protein levels. *Braz. J. of Poul. Scie*, v.15, n.2, 91-104, 2013.

GARRITY, G. M.; BELL, J. A.; LILBURN, T. G. Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition (Release 5.0). Springer: New York, 2004. p. 114-124.

GAST, R. K. *Salmonella* Infections. In: MCDUGALD, L. R.; SUAREZ, D. L.; NAIR, V. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 13th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2013, p. 677.

GAST R. K.; REGMI P.; GURAYA R.; JONES D. R.; ANDERSON K. E.; KARCHER D. M. Colonization of internal organs by *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens

of four commercial genetic lines in conventional cages and enriched colony housing. *Poult. Sci.* 98, p.1785–1790, 2019.

GIBSON, D. J.; NEMETH, N. M.; BEAUFRÈRE, H.; VARGA, C.; EAGALLE, T.; SUSTA, L. Captive Psittacine Birds in Ontario, Canada: a 19-Year Retrospective Study of the Causes of Morbidity and Mortality. *J.Comp. Pathol.*, v. 171, p. 38-52, 2019.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. Antigenic formulae of the Salmonella serovars." WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France, 2007.

GRUNKEMEYER, V. L. Zoonoses, public health, and the backyard poultry flock. *Vet Clin Exot Anim Pract.*, v. 14, n. 3, p. 477-490, 2011.

GUIA BRASILEIRO DE BOAS PRÁTICAS EM EUTANÁSIA EM ANIMAIS - Conceitos e Procedimentos Recomendados. Brasília, v. 1: 66 p. 2012.

GUO, J. T.; ALDRICH, C. E.; MASON, W. S.; PUGH, J. C. Characterization of serum amyloid A protein mRNA expression and secondary amyloidosis in the domestic duck. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 93, n. 25, p. 14548–14553, 1996.

HABIBI, W. A.; HIRAI, T.; NIAZIMAND, M. H.; OKUMURA, N.; YAMAGUCHI, R. Experimental induction of chicken amyloid A amyloidosis in white layer chickens by inoculation with inactivated vaccines. *Avian Pathol.*, v. 46, n. 5, p.497-505, 2017.

HANSEN, R. J.; WALZEM, R. L. Avian fatty liver hemorrhagic syndrome: a comparative review. *Adv Vet Sci Comp Med.*, v. 37, p. 451-468, 1993.

HARTER, J. M.; BAKER, D. H. Factors affecting methionine toxicity and its alleviation in the chick. *J Nutr.*, v. 108, n. 7, p. 1061-1070, 1978.

HASSANIN, O.; ABDALLAH, F.; EL-ARABY, I. E. Molecular characterization and phylogenetic analysis of Marek's disease virus from clinical cases of Marek's disease in Egypt. *Avian Dis.*, v. 57, n. 2s1, p.555-561, 2013.

HAUCK, R.; STOUTE, S.; CHIN, R. P.; SENTÍES-CUÉ, C. G.; SHIVAPRASAD, H. L. Retrospective Study of Histomoniasis (Blackhead) in California Turkey Flocks, 2000-2014. *Avian Dis.*, v. 62, n. 1, p. 94-100, 2018.

HERMIER, D. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. *J. Nutr.*, v. 127, n. 5, p. 805s–808s, 1997.

HESS, C.; JANDRESKI-CVETKOVIC, D.; LIEBHART, D.; BILIC, I.; HESS, M. Outbreaks of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *pasteurianus* in goslings characterized by central nervous symptoms. *Avian Dis.* 2020.

HILL, J. E.; BURKE, D. L.; ROWLAND, G. N. Hepatopathy and lymphosarcoma in a myna bird with excessive iron storage. Pet bird medicine; case report. *Avian Dis*, v. 30, n. 3, p. 634-636, 1986.

HOERR, F. J. Mycotoxicoses. In: BOULIANE, M.; LOGUE, C. M.; MCDUGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ, D. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 14th ed. Iowa: Wiley-Blackwell. 2020. p.1330-1348.

IBGE. Fundação instituto brasileiro de geografia e estatística. Estatística da Produção Pecuária. Rio de Janeiro: IBGE, dezembro de 2020.

IBI, K.; MURAKAMI, T.; GODA, W. M.; KOBAYASHI, N.; ISHIGURO, N.; YANAI, T. Prevalence of amyloid deposition in mature healthy chickens in the flock that previously had outbreaks of vaccine-associated amyloidosis. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 77, n. 10, p. 1241-1245, 2015.

ISSENHUTH-JEANJEAN, S.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; GUIBOURDENCHE, M.; DE PINNA, E.; NAIR, S.; FIELDS, P. I.; WEILL, F. X. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res. Microbiol, Paris*, v. 165, n. 7, p. 526-530, 2014.

ITAKURA, C.; YASUBA, M.; GOTO, M. Histopathological studies on inclusion body hepatitis in broiler chickens. *Jap. J. Vet. Sci.*, v. 36, n. 4, p. 329-340, 1974.

JANSSON, D. S.; BRÖJER, C.; NEIMANIS, A.; MÖRNER, T.; MURPHY, C. L.; OTMAN, F.; WESTERMARK, P. Post mortem findings and their relation to AA amyloidosis in free-ranging Herring gulls (*Larus argentatus*). *PloS one*, v. 13, n. 3, p. e0193265, 2018.

KAUFMANN-BART, M.; HOOP, R. K. Diseases in chicks and laying hens during the first 12 years after battery cages were banned in Switzerland. *Vet. rec*, v. 164, n. 7, p. 203-207, 2009.

KHAN, A.; MAHMOOD, F.; HUSSAIN, R.; SIDDIQUE, A. B.; GUL, S. T.; SALEEMI, M. K.; LI, F.; SHEN, M. Lymphoid Leukosis in Fayoumi Birds Reared in Countryside. *Int.J.Agric. Biol*, v. 22, n. 4, p. 620-626, 2019.

LANDMAN, W. J.; GRUYS, E.; GIELKENS, A. L. Avian amyloidosis. *Avian Pathol.*, v. 27, p. 437-449, 1998.

LEÃO, P. A.; OLIVEIRA, L. B.; ANRDRADE, M. C.; HERGOT, I. G.; XAVIER, R. G. C.; LEAL, C. A.; DUARTE, S. C.; ECCO, R. Salmonelose Tífica em aves de subsistência e de postura comercial: relato de três surtos com ênfase no diagnóstico, epidemiologia e controle. *Avicultura Industrial (Porto Feliz. Impresso)*, v. 109, p. 14-22, 2018.

LEDOUX, D. R.; BROWN, T. P.; WEIBKING, T. S.; ROTTINGHAUS, G. E. Fumonisin toxicity in broiler chicks. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 4, n. 3, p. 330-333, 1992.

LEESON, S. Metabolic challenges: past, present, and future. *J. Appl. Poult. Res.*, v. 16, n. 1, p. 121-125, 2007.

LEVEILLE, G. A.; ROMSOS, D. R.; YEH, Y.-Y.; O'HEA, E. K. Lipid biosynthesis in the chick. A consideration of site of synthesis, influence of diet and possible regulatory mechanisms. *Poult. Sci.*, v. 54, n. 4, p. 1075-1093, 1975.

LIU, D.; KONG, L.; TAO, J.; XU, J. An Outbreak of Histomoniasis in Backyard Sanhuang Chickens. *Korean J Parasitol.*, v. 56, n. 6, p. 597-602, 2018.

LI, M.; XIONG, H.; WU, H.; HU, D.; LIN, Y.; HUANG, X.; WANG, J.; QI, K.; LIU, H. Pathologic characterization of coinfection with *Histomonas meleagridis*, Marek's disease virus, and subtype J avian leukosis virus in chickens. *Avian Dis.* 2021.

LIU, H.; MA, K.; LIU, M.; YANG, C.; HUANG, X.; ZHAO, Y.; QI, K. Histologic findings and viral antigen distribution in natural coinfection of layer hens with subgroup J avian leukosis virus, Marek's disease virus, and reticuloendotheliosis virus. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 31, n. 5, p. 761-765, 2019.

LØVLAND, A.; KALDHUSDAL, M. Liver lesions seen at slaughter as an indicator of necrotic enteritis in broiler flocks. *FEMS Immunol Med Microbiol.*, v. 24, n. 3, p. 345-351, 1999.

LUCAS, A. M.; DENINGTON, E. M. Morphology of the chicken liver. *Poult. Sci.*, v. 35, n. 4, p. 793-806, 1956.

LUMEIJ, J. T.; WESTERHOF, I. Blood chemistry for the diagnosis of hepatobiliary disease in birds. A review. *Vet Q*, v. 9, n. 3, p. 255-261, 1987.

LUNA, L. G. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.

LUND, E. E.; CHUTE, A. M. *Heterakis* and *Histomonas* infections in young peafowl, compared to such infections in pheasants, chickens, and turkeys. *J Wildl Dis.*, v. 8, n. 4, p. 352-358, 1972.

LUND, E. E.; CHUTE, A. M.; VERNON, M. E. L. Experimental infections with *Histomonas meleagridis* and *Heterakis gallinarum* in ducks and geese. *J.Parasitol*, v. 60, n. 4, p. 683-686, 1974.

MARMUR, J. A. Procedure for the Isolation of Deoxyribonucleic Acid from Micro-organisms. *J.Mol. Biol.*, v. 3, n. 2, p. 208-218, 1961.

MANNING, L. K.; WÜNSCHMANN, A.; ARMIÉN, A. G.; WILLETTE, M.; MACAULAY, K.; BENDER, J. B.; BUCHWEITZ, J. P.; REDIG, P. Lead Intoxication in Free-Ranging Bald Eagles (*Haliaeetus leucocephalus*). *Vet Pathol.*, v. 56, n. 2, p. 289-299, 2019.

MARTINS, N. R. S.; MARQUES, M. V. R.; VILELA, D. A. R.; RESENDE, J. S.; CARVALHAES, A. G.; ANDRADE, E. A. G.; BARRIOS, P. R. Lead poisoning mortality in wild Passeriformes and its detection in free-range chicken eggs in Southern Minas Gerais, Brazil. *Braz J Poultry Sci* v.12, n. 3, p.149-152, 2010.

MAZZOCCO, M. B.; CASAGRANDE, R. A.; WISSER, C. S.; CAMARGO, M. C.; KOLLING, A.; TRAVERSO, S. D. Leucose mieloide em poedeira caipira negra de fundo do quintal do Estado de Santa Catarina. *Rev. Ciênc. Agrovet. (UDESC)*, v. 11, p. 251-253, 2012.

MCDUGALD, L. R. Blackhead Disease (Histomoniasis) in Poultry: A Critical Review. *Avian Dis.*, v. 49, n. 4, p. 462-476, 2005.

MERLINI, G.; BELLOTTI, V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N. Engl. J. Med.*, v. 349, n. 6, p. 583-596, 2003.

- METE, A.; GIANNITTI, F.; BARR, B.; WOODS, L.; ANDERSON, M. Causes of mortality in backyard chickens in northern California: 2007–2011. *Avian Dis.*, v. 57, n.2, p. 311-315., 2013.
- METE, A.; GHARPURE, R.; PITESKY, M. E.; FAMINI, D.; SVERLOW, K.; DUNN, J. Marek's disease in backyard chickens, a study of pathologic findings and viral loads in tumorous and nontumorous birds. *Avian Dis.*, v. 60, n. 4, p. 826-836, 2016.
- MEULEMANS, G.; BOSCHMANS, M.; VAN DEN BERG, T. P.; DECAESSTECKER, M. Polymerase chain reaction combined with restriction enzyme analysis for detection and differentiation of fowl adenovirus. *Avian Pathol*, v. 30, n. 6, p. 655-660, 2001.
- MEYER, M.; BOBECK, E.; SATO, Y.; EL-GAZZAR, M. Comparison of naturally-occurring versus experimental infection of *Staphylococcus aureus* septicemia in Laying Hens in two different age groups. *Avian Dis.* 2021.
- MICHELAZZO, M. M. Z.; SASSE, J. P.; SOUZA, M.; MARUTANI, V. H. B.; SAMPAIO BAPTISTA, A. A.; GARCÍA, J. L.; ALFIERI, A. A.; HEADLEY, S. A. Systemic Histomoniasis in a Leucistic Indian peafowl (*Pavo cristatus*) from Southern Brazil. *Avian Dis.*, vol. 61, n. 3, p. 325-329, 2017.
- MILLER, P. J.; KOCH, G. Newcastle Disease, Other Avian Paramyxoviruses, and Avian Metapneumovirus Infections. In: MCDOUGALD, L. R.; SUAREZ, D. L.; NAIR, V. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 13th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2013, p. 89- 138.
- MIR, M. S.; DARZI, M. M.; KHAN, A. A.; GANAIE, N. A.; GUPTA, S.; NASHIRUDDULLAH, N.; KAMIL, S. A. Investigation of an outbreak of gout in Kashmir favorella poultry. *Indian J. Vet. Pathol.*, v. 29, n. 1, p. 35-37, 2005.
- MOKADY, D.; GOPHNA, U.; RON, E. Z. Extensive gene diversity in septicemic *Escherichia coli* strains. *J.Clin. Microbiol*, v. 43, n. 1, p. 66-73, 2005.
- MUDASIR, M.; DOGRA, S.; BADROO, G. A.; NASHIRRUDULLAH, N.; DOGRA, S.; BATOO, A. S.; JAVAID, M.; BHAT, M. A. Pathomorphological Study of Visceral Gout in Desi Fowl. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, v. 6, n. 10, p. 5039-5042, 2017.
- MURAKAMI, T.; MUHAMMAD, N.; INOSHIMA, Y.; YANAI, T.; GORYO, M.; ISHIGURO, N. Experimental induction and oral transmission of avian AA amyloidosis in vaccinated white hens. *Amyloid*, v. 20, n. 2, p. 80-85, 2013a.
- MURAKAMI, T.; INOSHIMA, Y.; SAKAMOTO, E.; FUKUSHI, H.; SAKAI, H.; YANAI, T.; ISHIGURO, N. AA amyloidosis in vaccinated growing chickens. *J. Comp. Pathol.*, v. 149, n. 2-3, p. 291-297, 2013b.
- MURAKAMI, T.; ISHIGURO, N.; HIGUCHI, K. Transmission of systemic AA amyloidosis in animals. *Vet. Pathol.*, v. 51, n. 2, p. 363-371, 2014.
- NAIR, V. Neoplastic Diseases. In: BOULIANE, M.; LOGUE, C. M.; MCDOUGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ D. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 14th ed. Iowa: Wiley-Blackwell. 2020. p. 548-715.

NAKAMURA, K.; MASE, M.; YAMAMOTO, Y.; TAKIZAWA, K.; KABEYA, M.; WAKUDA, T.; MATSUDA, M.; CHIKUBA, T.; YAMAMOTO, Y.; OHYAMA, T.; TAKAHASHI, K.; SATO, N.; AKIYAMA, N.; HONMA H.; IMAI, K. Inclusion Body Hepatitis Caused by Fowl Adenovirus in Broiler Chickens in Japan, 2009-2010. *Avian Dis.*, v. 55, n. 4, p. 719-723, 2011.

NAKAYAMA, Y.; KAMIIE, J.; WATANABE, G.; SUZUKI, K.; MURAKAMI, T. Spontaneous, Experimentally Induced, and Transmissible AA Amyloidosis in Japanese Quail (*Coturnix japonica*). *Vet. Pathol.*, 2017, vol. 54, n. 6, p. 912-921, 2017.

NOLAN, L. K.; VAILLANCOURT, J. P.; BARBIERI, N. L.; LOGUE, C. M. Colibacillosis. In: BOULIANE, M.; LOGUE, C. M.; MCDUGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ, D. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 14th ed. Iowa: Wiley-Blackwell. 2020. p.770-830.

OLIVEIRA, D. R. M. S.; NÄÄS, I. A.; MOLLO NETO, M.; CANUTO, S. A.; WALKER, R.; VENDRAMETTO, O. Issues of sustainability on the Brazilian broiler meat production chain. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ADVANCES IN PRODUCTION MANAGEMENT SYSTEMS, 2012, Rhodes. Anais. Competitive Manufacturing for Innovative Products and Services: proceedings, Greece: Internacional Federation for Information Processing, 2012.

OLIVEIRA, G.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, A. experimental infection of laying hens with Salmonella Enterica Serovar Gallinarum. *Braz. J. Microbiol.*, v. 36, n. 1, p. 51-56, 2005.

OLSEN, R. H.; FRANTZEN, C.; CHRISTENSEN, H.; BISGAARD, M. An Investigation on First-Week Mortality in Layers. *Avian Dis.*, v. 56, n. 1, p. 51-57, 2012.

PAYNE, L. N. Retroviridae In: PATTISON, M.; MCMULLIN, P. F.; BRADBURY, J. M.; ALEXANDER, D. J. (Eds.) *Poultry Diseases*. 6th ed. Saunders Ltd.; 2008. p.276-293.

PAYNE, L. N.; BROWN, S. R.; BUMSTEAD, N.; HOWES, K.; FRAZIER, J. A.; THOULESS, M. E. A novel subgroup of exogenous avian leukosis virus in chickens. *J. Gen. Virol.*, v. 72, n. 4, p. 801-807, 1991.

PEREIRA, W. A. B.; HATAYDE, M. R.; GODOY, G. S.; ALESSI, A. C.; BERCHIERI JUNIOR, A. Clinical and pathological changes of laying hens (*Gallus gallus domesticus*) experimentally poisoned by *Crotalaria spectabilis* seeds (Leg. Papilionoideae). *Ars Vet.*, v. 27, n. 1, p. 45-50, 2011.

PEREIRA, C. G.; MARIN, S. Y.; SANTOS, B. M.; RESENDE, J. S.; RESENDE, M.; GOMES, A. M.; MARTINS, N. R. S. Occurrence of Aviadenovirus in chickens from the poultry industry of Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 66, n. 3, p. 801-808, 2014.

POHJOLA, L.; ROSSOW, L.; HUOVILAINEN, A.; SOVERI, T.; HÄNNINEN, M.-L.; FREDRIKSSON-AHOMAA, M. Questionnaire study and postmortem findings in backyard chicken flocks in Finland. *Acta Vet Scand.*, v. 57, n. 3, p. 1-9, 2015.

POLLOCK, S. L.; STEPHEN, C.; SKURIDINA, N.; KOSATSKY, T. Raising Chickens in City Backyards: The Public Health Role. *J Community Health.*, v. 37, n. 3, p. 734-742, 2012.

POPP, C.; HAUCK, R.; BLAZEY, B.; HÄNEL A.; HAFEZ, H. M. An unusual outbreak of histomonosis in a commercial turkey flock. *Berl.Munch. Tierarztl. Wochenschr.t*, v. 125, n. 3-4, p. 153-158, 2012.

PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. Laboratory Methods in Histotechnology. Armed Forces Institute of Pathology. American Registry of Pathology, Washington, 1992. 279p.

RAHIMI M.; HAGHIGHI, Z. M. S. Adenovirus-like inclusion body hepatitis in a flock of broiler chickens in Kermanshah province, Iran. *Vet Res Forum.*, v. 6, n. 1, p. 95-98, 2015.

RAHMAN, M. A.; SAMAD, M. A.; RAHMAN, M. B.; KABIR, S. M. L. Bacterio-pathological Studies on Salmonellosis, Colibacillosis and Pasteurellosis in Natural and Experimental Infections in Chickens. *Bangl. J. Vet. Med.*, v. 2, n. 1, p. 1-8. 2004.

RAJKHOWA, T. K.; ARYA, R. S. Concurrent occurrence of haemangioma and hepatocellular carcinoma in layer chicken - A case report. *Indian J. Vet. Pathol.*, v. 40, n. 1, p. 96-98, 2016.

RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A. When tissue antigens and antibodies get along: revisiting the technical aspects of immunohistochemistry-the red, brown, and blue technique. *Vet Pathol.*, v. 51, n. 1, p. 42-87, 2014.

REECE, R. L. Some observations on naturally occurring neoplasms of domestic fowls in the state of Victoria, Australia (1977-87). *Avian Pathol.*, v. 25, n. 3, p. 407-447, 1996.

REZENDE, C. S. M.; ANDRADE, M. A.; MESQUITA, A. J.; COELHO, K. O.; MINAFRA, C. S.; ARRUDA, M. L. T.; LAGE, M. E. *Salmonella* sp. em corações e fígados normais e condenados de frangos de corte abatidos no estado de Goiás e identificação da suscetibilidade a antimicrobianos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.*, v. 67, n. 2, p. 142-147, 2008.

SAVARIS, T.; BIFFI, C.P.; OGLIARI, D.; WICPOLT, N.; MOLOSSI, F. A.; MELCHIORETTO, E.; GARDNER, D.; GAVA, A. Experimental poisoning by *Crotalaria lanceolata* and *Crotalaria pallida* seeds in broilers. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 39, n. 11, p. 863-869, 2019.

SAIF, Y. M. Viral enteric infections. In: SWAYNE, D. E.; GLISSON, J. R.; MCDOUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SUAREZ, D. L.; NAIR, V. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 13th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2013. p. 375-395.

SCHACHNER, A.; MATOS, M.; GRAFL, B.; HESS, M. Fowl adenovirus-induced diseases and strategies for their control - a review on the current global situation. *Avian Pathol.*, v. 47, n. 2, p.111-126, 2018.

SCHOCK, A.; GARCIA-RUEDA, C.; BYAS, R.; NUÑEZ, A.; BAIGENT, S. Severe outbreak of Marek's disease in crested partridges (*Rollulus rouloul*). *Vet. Rec.*, v. 179, n. 17, p. 443-444, 2016.

SENTÍES-CUÉ, G.; CHIN, R. P.; SHIVAPRASAD, H. L. Systemic histomoniasis associated with high mortality and unusual lesions in the bursa of Fabricius, kidneys, and lungs in commercial turkeys. *Avian dis.*, v. 53, n. 2, p. 231-238, 2009.

- SHINI, A.; SHINI, S.; BRYDEN, W. L. Fatty liver haemorrhagic syndrome occurrence in laying hens: impact of production system. *Avian Pathol*, v. 48, n. 1, p. 25-34, 2019.
- SHIVAPRASAD, H. L. Fowl typhoid and pullorum disease. *Rev. Sci. Tech. Int. Off. Epiz.*, v. 19, n. 2, p. 405-424, 2000.
- SHIVAPRASAD, H.L. E BARROW, P.A. Pullorum disease and fowl typhoid. In: D.E. SWAYNE, J.R. GLISSON, L.R. MCDUGALD, L.K. NOLAN, D.L. SUAREZ & V.L. NAIR (Eds.). *Diseases of Poultry* 13th ed. Ames: Iowa State Press. 2013. p.678-693.
- SHLOSBERG, A. Toxicants in poultry. In: PATTISON, M.; MCMULLIN, P. F.; BRADBURY, J. M.; ALEXANDER, D. J. (Eds.) *Poultry Diseases*. 6th ed. Saunders Ltd. 2008. p.548-559.
- SILVA, A. P.; SHIVAPRASAD, H. L.; JERRY, C.; STOUTE, S. T. An Uncommon Case of *Trueperella pyogenes* Infection in an Adult Backyard Rooster and a Retrospective Study; 2000-2020. *Avian Dis*. 2020.
- SILVA, I. M. M.; BALIZA, M.; SANTOS, M. P.; REBOUÇAS, L. T.; ROCHA, E. V. S.; SANTOS, V. A.; SILVA, R. M.; EVÊNCIO-NETO, J. Presença de *Escherichia coli* em fígados de frangos provenientes de matadouros avícolas. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, v. 13, n. 3, p. 694-700, 2012.
- SILVA, T. M.; OKAMOTO, A. S.; SMANIOTTO, B. D.; PAES, A. C.; ANDREATTI FILHO, R. L. Histomoniasis in turkey (*Meleagris gallopavo*) — a case report. *Vet. e Zootec.*, v. 21, n. 2, p. 269-274. 2014.
- SIPE, J. D.; BENSON, M. D.; BUXBAUM, J. N.; IKEDA, S.-I.; MERLINI, G.; SARAIVA, M. J. M.; WESTERMARK, P. Amyloid fibril proteins and amyloidosis: chemical identification and clinical classification International Society of Amyloidosis 2016 Nomenclature Guidelines. *Amyloid*, v. 23, n. 4, p. 209-213, 2016.
- SIQUEIRA, G. B.; MARQUES, S. M. T. Intestinal parasites in free-range chickens in the metropolitan area of Porto Alegre, RS. *PUBVET*, v. 10, n. 9, p. 690-695, 2016.
- SOBHAKUMARI A.; HARGRAVE, S. A.; HILL, A. E.; POPPENG, R. H. Lead Contamination in Backyard Chicken Layer Flocks in California. *J Vet Diagn Invest*, v. 31, n. 3, p. 359-363, 2018.
- SOUSA, A. C. F. C.; OLIVEIRA, G. R.; ARAÚJO JÚNIOR, H. N.; PRAZERES JÚNIOR, F. R.; SANTOS, C. S.; FEIJÓ, F. M. C.; FREITAS, C. I. A.; BRAGA, J. F. V. Histomoníase em pavão (*Pavo cristatus*) no semiárido potiguar. *Acta Sci. Vet.*, v. 49, n. 1, p. 1-6, 2021.
- SOUSA, E. Registro da doença de Marek, Leucose aviária e doença Infecciosa da bolsa na Região do Triângulo Mineiro, no período de 1999 a 2003. *PUBVET*, v. 4, n. 27, p. art. 893-898, 2010.
- SQUIRES, E. J.; LEESON, S. An etiology of fatty liver syndrome in laying hens. *British Vet J.*, v. 144, n. 6, p. 602-609, 1988.
- STOKHOLM, N. M.; PERMIN, A.; BISGAARD, M.; CHRISTENSEN, J. P. Causes of Mortality in Commercial Organic Layers in Denmark. *Avian Dis.*, v. 54, n. 4, p. 1241-1250, 2010.

SUN, J.; ZHANG, Y.; GAO, S.; YANG, J.; TANG, Y.; DIAO, Y. Pathogenicity of fowl adenovirus serotype 4 (FAdV-4) in chickens. *Infect. Genet. Evol.*, v. 75, art. 104017, p. 1-10, 2019a.

SUN, P.; LIN, S.; HE, S.; ZHOU, E.-M.; ZHAO, Q. Avian Hepatitis E Virus: With the Trend of Genotypes and Host Expansion. *Front. Microbiol.*, v. 10, art. 1696, p. 1-10, 2019b.

SWATHI, B.; KUMAR, A. A.; REDDY, M. R. Histological and molecular diagnosis of poultry tumours. *Ind. J. Vet. Pathol.*, v. 36, n. 1, p. 41-48. 2012.

SWAYNE, D. E.; SUAREZ, D. L.; SIMS, L. D. Influenza. In: SWAYNE, D. E.; GLISSON, J. R.; MCDUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SUAREZ, D. L.; NAIR, V. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 13th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2013. p.181-218.

TANAKA, S.; DAN, C.; KAWANO, H.; OMOTO, M.; ISHIHARA, T. Pathological study on amyloidosis in *Cygnus olor* (mute swan) and other waterfowl. *Med. Mol. Morphol.*, v. 41, n. 2, p. 99-108, 2008.

THØFNER, I. C. N.; POULSEN, L. L.; BISGAARD, M.; CHRISTENSEN, H.; OLSEN, R. H.; CHRISTENSEN, J. P. Longitudinal Study on Causes of Mortality in Danish Broiler Breeders. *Avian Dis.*, v. 63, n. 3, p. 400-410, 2019.

TORO, H.; PRUSAS, C.; RAUE, R.; CERDA, L.; GEISSE, C.; GONZALEZ, C.; HESS, M. *Characterization of Fowl Adenoviruses from Outbreaks of Inclusion Body Hepatitis/Hydropericardium Syndrome in Chile*. *Avian Dis.*, v. 43, p. 262-270, 1999.

TORO, H.; GONZALEZ, C.; CERDA, L.; HESS, M.; REYES, E.; GEISSE, C. Chicken Anemia Virus and Fowl Adenovirus: Association to Induce the Inclusion Body Hepatitis/Hydropericardium Syndrome. *Avian Dis.*, v. 44, n. 1, p. 51-58, 2000.

TORRES, A. C. D.; MARIN, S. Y.; COSTA, C. S.; MARTINS, N. R. S. An Overview on Marek's Disease Virus Evolution and Evidence for Increased Virulence in Brazil. *Braz. J. Poult. Sci.*, v. 21, n. 1, 2019.

TRACY, L. M.; SHEPHERD, E. M.; FRANÇA, M.; WILLIAMS, S. M.; GROGAN, K. B.; NICHOLDS, J. A.; SHAMOUN, K.; LEE, C. Hemorrhagic Hepatopathy in Broiler Breeder Pullets: Gross and Microscopic Pathology and Factors Associated with Incidence. *Avian Dis.* 2021.

TRAMPEL, D. W.; SELL, J. L.; AHN, D. U.; SEBRANEK, J. G. Preharvest feed withdrawal affects liver lipid and liver color in broiler chickens. *Poult. Sci.* 84, 137-142, 2005.

TRINDADE, M. M.; SCHENEIDERS, G.; CORREA, I. M. O.; FLORES, M.; KOMMERS, G. D. Histomoníase em pavão (*Pavo cristatus*). *Hora Vet.*, v. 31, n. 184, p. 56-58, 2011.

TROTT, K. A.; GIANNITTI, F.; RIMOLDI, G.; HILL, A.; WOODS, L.; BARR, B.; ANDERSON, M.; METE, A. Fatty Liver Hemorrhagic Syndrome in the Backyard Chicken: A Retrospective Histopathologic Case Series. *Vet. Pathol.*, v. 51, n. 4, p. 787-795, 2014.

- TYZZER, E. E. Studies on histomoniasis or “blackhead” infection, in the chicken and turkey. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*, v. 69, n. 5, p. 189-264, 1934.
- VANDEKERCHOVE, D.; DE HERDT, P.; LAEVEN, H.; PASMANS, F. Colibacillosis in caged layer hens: characteristics of the disease and the etiological agent. *Avian Pathol*, v. 33, n. 2, p. 117-125, 2004.
- VOGELSTEIN, B.; GILLESPIE, D. Preparative and analytical purification of DNA from agarose. *Proc. Natl Acad. Sci*, v. 76, n. 2, p. 615-619, 1979.
- WADSWORTH, P. F.; JONES, D. M.; PUGSLEY, S. L. Hepatic haemosiderosis in birds at the Zoological Society of London. *Avian Pathol*, v. 12, n. 3, p. 321-330, 1983.
- WARRIS, P. D.; KESTIN, S. C.; BROWN, S. N.; KNOWLES, T. G.; WILKINS, L. J.; EDWARDS, J. E.; AUSTIN, J. D.; NICOL, C. J. The depletion of glycogen stores and indices of dehydration in transported broilers. *Br. Vet. J*, v. 149, n. 4, p. 391-399, 1993.
- WEN, Y.; HUANG, Q.; YANG, C.; PAN, L.; WANG, G.; QI, K.; LIU, H. Characterizing the histopathology of natural co-infection with Marek’s disease virus and subgroup J avian leukosis virus in egg-laying hens. *Avian Pathol.*, v. 47, n. 1, p. 83-89, 2018.
- WESTERMARK, G. T.; WESTERMARK, P. Prion-like aggregates: infectious agents in human disease. *Trends Mol. Med.*, v. 16, n. 11, p. 501-507, 2010.
- WIGLEY, P.; JONES, M. A.; BARROW, P. A. Salmonella enterica serovar Pullorum requires the Salmonella pathogenicity island 2 type III secretion system for virulence and carriage in the chicken. *Avian Pathol*, v. 69, n. 9, p. 501–506, 2002.
- WILLIAMS, S. M.; REECE, R. L.; HAFNER, S. Other Tumors. Diseases. In: BOULIANE, M.; LOGUE, C. M.; MCDUGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ D. L. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 14th ed. Iowa: Wiley-Blackwell. 2020. p. 637-715.
- YUGO, D. M.; HAUCK, R.; SHIVAPRASAD, H. L.; MENG, X.-J. Hepatitis Virus Infections in Poultry. *Avian Dis*, v. 60, n. 3, p. 576-588, 2016.
- ZAEFARIAN, F.; ABDOLLAHI, M. R.; COWIESON, A.; RAVINDRAN, V. Avian Liver: The Forgotten Organ. *Animals*, v. 9, n. 2, p. 63, 2019.