

**INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE**  
**Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação**  
**Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal**



**Dissertação**

**Infecção por estirpes virais do Genogrupo 4 do vírus da doença de Gumboro em frangos  
previamente vacinados no Estado do Paraná**

**José Emílio de Menezes Dias**

**Concórdia, 2023**

**José Emílio de Menezes Dias**

**Infecção por estirpes virais do Genogrupo 4 do vírus da doença de Gumboro em frangos  
previamente vacinados no Estado do Paraná**

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

**Orientador:** Breno Castello Branco Beirão

**Coorientador (es):** Diogenes Dezen; Eva Laurice Pereira  
Cunha Hunka

**Concórdia, 2023**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e  
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

D541i      Dias, José Emílio de Menezes  
            Infecção por estirpes virais do Genogrupo 4 do vírus  
da doença de Gumboro em frangos previamente vacinados  
no Estado do Paraná / José Emílio de Menezes Dias;  
orientador Breno Castello Branco Beirão;  
coorientador Diogenes Dezen. -- Concórdia, 2023.  
            47 p.

            Dissertação (mestrado) - Instituto Federal  
Catarinense, campus Concórdia, , Concórdia, 2023.

            Inclui referências.

            1. Doença de Gumboro. 2. Bursa de Fabricius. 3.  
RFLP. 4. Genogrupo 4 (dIBDV). 5. G15. I. Beirão,  
Breno Castello Branco , II. Dezen, Diogenes . III.  
Instituto Federal Catarinense. . IV. Título.

**José Emílio de Menezes Dias**

**Infecção por estirpes virais do Genogrupo 4 do vírus da doença de Gumboro em frangos  
previamente vacinados no Estado do Paraná**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

**Data da Defesa: 19/07/2023**

**Banca examinadora:**

**Prof. Dr. Breno Castello Branco Beirão (Orientador)**

**Doutor em Genômica animal e resistência à doenças pela Universidade de Edimburgo**

**Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense**

**Prof. Dr. Luiz Felipe Caron**

**Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Paraná**

**Instituição de vínculo: Universidade Federal do Paraná**

**Prof. Dr. Josiane Tavares de Abreu**

**Doutora em Ciências biológicas pela Universidade Federal de Minas Gerais**

**Instituição de vínculo**

**Prof. Dr. Diogenes Dezen**

**Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense**



**DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS Nº 20117/2023 - PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

**(Assinado digitalmente em 17/11/2023 14:52)**

**IVAN BIANCHI**

COORDENADOR DE CURSO - TITULAR

PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)

Matrícula: ###489#1

Visualize o documento original em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número: 20117, ano: 2023, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS**, data de emissão: 17/11/2023 e o código de verificação: **5dff5c10e2**

**Dedico este trabalho à toda minha família, em especial aos meus pais, que são meus maiores exemplos de força, determinação e perseverança.**

## **Agradecimentos**

Primeiramente agradeço à Deus pela minha vida, saúde e por me permitir alcançar os meus sonhos e objetivos. Aos meus pais, só tenho a agradecer por todo incentivo que deram, desde cedo, para que eu fosse atrás dos meus sonhos, e por me apoiarem nos momentos mais difíceis. Às minhas irmãs, obrigado por toda a força que sempre me deram. À minha noiva, Benila, agradeço pelo incentivo, paciência e pela compreensão. Aos meus amigos, André Miyazaki, Igor Vellano, Jessica Wammes e Leandro Bianchet agradeço o apoio e por contribuírem com este trabalho. Aos colegas da agroindústria, agradeço a parceria e por também contribuírem com o desenvolvimento deste trabalho. À Phibro Saúde Animal, agradeço o apoio. Aos meus mentores Breno Beirão, Diogenes Dezen e Eva Hunka, agradeço a paciência, dedicação e principalmente sou grato por poder ter aprendido muito com vocês. Ao IFC e todos os professores que contribuíram direta e indiretamente para a construção deste trabalho. À todos os que contribuíram para a construção deste trabalho e mais essa etapa de minha trajetória.

*“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?”*

*(Fernando Pessoa)*



## Resumo

DIAS, José Emílio de Menezes. **Infecção por estirpes virais do Genogrupo 4 do vírus da doença de Gumboro em frangos previamente vacinados no Estado do Paraná.** 2023. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2023.

A doença de Gumboro é causada por um vírus da família *Birnaviridae*, pertencente ao gênero *Avibirnavirus*, e que continuamente representa um desafio para a avicultura mundial. Na América do Sul, previamente foram detectadas estirpes virais do Genogrupo 4 (dIBDV) em lotes de aves comerciais. O aparecimento de variantes precisa ser constantemente monitorado para avaliar-se o risco de surgimento de surtos mesmo em animais vacinados. O objetivo deste trabalho foi realizar estudo epidemiológico do vírus de Gumboro em lotes de frangos comerciais no estado do Paraná (principal estado produtor de frangos no Brasil), realizar genotipagem das estirpes virais de Gumboro e as correlacionar com lesões em órgãos do sistema imune e dados zootécnicos. Foram avaliados 30 lotes de frangos com média de 24.949 aves alojadas, na faixa etária de 18 a 23 dias. Cinco amostras de Bursa de Fabricius foram colhidas por lote, para detecção e genotipagem do vírus de Gumboro. As amostras positivas para vírus de Gumboro com RFLP distinto dos vacinais foram submetidas a sequenciamento de um fragmento da região hiper variável do gene VP2. Ainda foram colhidas, por lote, cinco amostras de Bursa de Fabricius, timo, baço, tonsilas cecais e medula óssea para análise histopatológica. Dos 30 lotes avaliados, em 10 (33%), foram detectadas estirpes de Gumboro do Genogrupo 4 (dIBDV). As lesões encontradas na Bursa de Fabricius variaram de acordo com a estirpe viral detectada, sendo menores nas amostras negativas para o vírus de Gumboro. Não foram detectadas alterações significativas nos outros órgãos linfoides avaliados. Os dados zootécnicos (conversão alimentar, ganho de peso diário, índice de eficiência de produção e mortalidade) foram piores quando estirpes virais de Genogrupo 4 estavam presentes.

**Palavras-chave:** Doença de Gumboro; Bursa de Fabricius; RFLP; Genogrupo 4 (dIBDV); G15.

## Abstract

DIAS, José Emílio de Menezes. **Infection by strains of Genogroup 4 of the Gumboro disease virus in previously vaccinated chickens in the State of Paraná.** 2023. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2023.

Infectious Bursal Disease is caused by a virus of the *Birnaviridae* family, belonging to the genus *Avibirnavirus*, which continues to represent a challenge for poultry farming

worldwide. In South America, Genogroup 4 viral strains (dIBDV) have previously been detected in commercial broiler flocks. The emergence of variants needs to be constantly monitored to assess the risk of outbreaks even in vaccinated animals. The aim of this study was to carry out an epidemiological study of the Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) in commercial broiler flocks in the state of Paraná (main state producing chickens in Brazil), carry out genotyping of viral strains of Gumboro and correlate them with lesions in organs of the immune system and performance data. Thirty broiler flocks were evaluated, with an average of 24,949 birds per flock, aged between 18 and 23 days. Five Bursa of Fabricius samples were collected per flock for IBDV detection and genotyping. Positive samples for IBDV with RFLP distinct from the vaccines were submitted to sequencing of a fragment of the hypervariable region of the VP2 gene. Five samples of bursa of Fabricius, thymus, spleen, cecal tonsils and bone marrow were also collected per batch for histopathological analysis. Of the 30 flocks evaluated, in 10 (33%) strains of IBDV Genogroup 4 (dIBDV) were detected. Lesions found in the bursa of Fabricius varied according to the viral strain detected, being smaller in samples negative for the IBDV. No significant alterations were detected in the other evaluated lymphoid organs. Performance data (feed conversion, daily weight gain, production efficiency index and mortality) were worse when Genogroup 4 viral strains were present.

**Keywords:** Infectious Bursal Disease; Bursa of Fabricius; RFLP; Genogroup 4 (dIBDV); G15.

### Lista de Figuras

Figura 1	Interações entre o IBDV e as células imunes do hospedeiro.....	14
Figura 2	Estrutura do vírus da doença de Gumboro com destaque para a proteína VP2.....	15
Figura 3	Árvore filogenética das estirpes virais de Gumboro.....	16
Figura 4	Resultados gerais de análises nested-RT-PCR-RFLP.....	28
Figura 5	Resultados de análises nested-RT-PCR-RFLP da Empresa A.....	29
Figura 6	Resultados de análises nested-RT-PCR-RFLP da Empresa B.....	29
Figura 7	Resultados de análises nested-RT-PCR-RFLP da Empresa C.....	30
Figura 8	Análise filogenética dos dIBDV deste estudo.....	32

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Critérios utilizados para avaliação histopatológica das amostras de Bursa de Fabricius.....	25
Tabela 2	Detecção molecular do vírus de Gumboro em cada lote avaliado.....	26
Tabela 3	Avaliação da frequência de detecção das estirpes dIBDV por programa vacinal pelo método de qui-quadrado.....	29
Tabela 4	Escores médios de lesões de Bursa de Fabricius de frangos de corte entre 18 e 23 dias de vida, de acordo com a estirpe viral detectada através da nested-RT-PCR-RFLP.....	32
Tabela 5	Escores médios de lesões de Bursa de Fabricius de frangos de corte entre 18 e 23 dias de vida, infectados por dIBDV, comparado por cada empresa.....	33
Tabela 6	Avaliação da frequência de lesões em baço, timo, tonsilas cecais e medula óssea em aves infectadas por dIBDV, através do método de qui-quadrado.....	33
Tabela 7	Desempenho zootécnico de lotes comerciais de frangos de corte de acordo com a estirpe viral detectada na Bursa de Fabricius através da nested-RT-PCR-RFLP entre 18 e 23 dias de vida.....	34

## SUMÁRIO

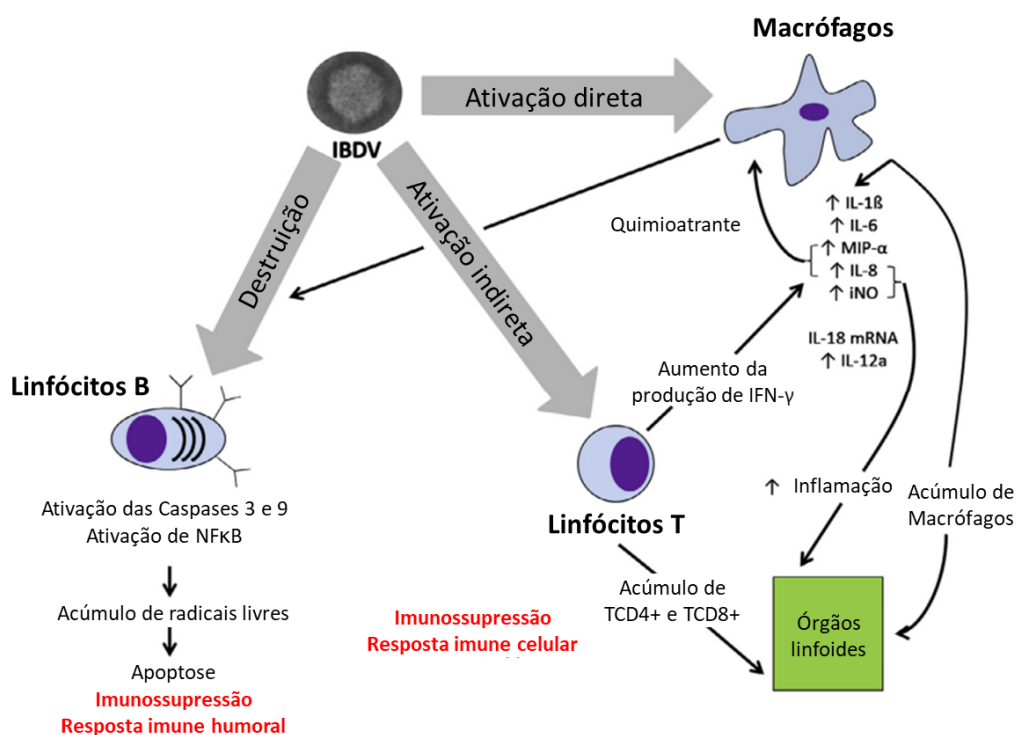
1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE .....	13
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	Geral.....	19
2.2	Específicos.....	19
3	INFEÇÃO POR ESTIRPES VIRAIS DO GENOGRUPO 4 DO VÍRUS DA DOENÇA DE GUMBORO EM FRANGOS PREVIAMENTE VACINADOS NO ESTADO DO PARANÁ* .....	20
3.1	Introdução .....	20
3.2	Material e Métodos .....	22
3.3	Resultados.....	265
3.4	Discussão .....	3434
3.5	Conclusão.....	399
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	41
5	REFERÊNCIAS.....	4242
6	ANEXOS .....	46

## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

A doença de Gumboro é uma doença altamente contagiosa, causada por um vírus da família *Birnaviridae*, pertencente ao gênero *Avibirnavirus* (Dobos et al., 1979). Este é um vírus icosaédrico não envelopado composto por material genético RNA fita dupla (dsRNA) com dois segmentos (A e B) (Müller et al., 1979). A doença de Gumboro foi primeiramente relatada em 1957 nos Estados Unidos na cidade de Gumboro, em Delaware (Cosgrove, 1962) e ainda hoje representa um grande desafio para a indústria avícola em todo o mundo (Michel & Jackwood, 2017).

São descritos dois sorotipos para o vírus da doença de Gumboro (IBDV), os sorotipos 1 e 2, sendo que somente os vírus pertencentes ao sorotipo 1 são patogênicos para as aves (Jackwood et al., 1985). As aves se infectam pela via oral e o vírus é transportado pelos tecidos pelas células fagocíticas. Todos os compartimentos do sistema imune da ave podem ser afetados durante a infecção pelo IBDV. O vírus interage com as células imunes de uma maneira muito abrangente e complexa, destruindo linfócitos B, atraindo células T e ativando macrófagos (Ingrao et al., 2013) (Figura 1). O vírus atinge Bursa de Fabricius que é o principal órgão alvo da doença de Gumboro. Rapidamente, o vírus inicia o seu processo de replicação, acarretando a destruição de células linfoides presentes nos folículos da Bursa de Fabricius, principalmente os linfócitos B. Além disso, há também o aumento no recrutamento de células T à Bursa de Fabricius durante e após a replicação viral, o que também pode contribuir para o dano tecidual através dos efeitos citotóxicos e de liberação de citocinas (Sharma et al., 2000). Há então a supressão da resposta imune humoral e celular devido à morte de linfócitos B e seus precursores, bem como de macrófagos (Michel & Jackwood, 2017). A morte de leucócitos causa depleção celular na Bursa após a fase aguda da infecção. Em fase posterior o tecido pode ser “repovoado” pelos linfócitos B (Müller et al., 2003), entretanto, o aumento no número de linfócitos T e sua ação na Bursa de Fabricius pode retardar a regeneração linfoide do tecido (Rautenschlein et al., 2002).

**Figura 1.** Interações entre o IBDV e as células imunes do hospedeiro (IBDV = vírus da doença de Gumboro; iNO = óxido nítrico sintetase indutível; IL = interleucina; IFN = interferon; MIP = proteína inflamatória de macrófagos).



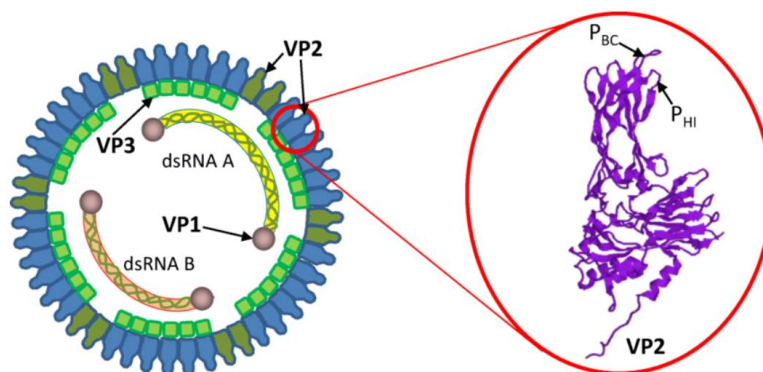
Fonte: adaptado de Ingrao et al., 2013

Os achados clínicos decorrentes da patogênese do vírus de Gumboro incluem anorexia, diarreia, prostração, mortalidade variável (0 a 100%) e desidratação. No exame *post mortem* de aves que morrem durante a fase aguda, a Bursa de Fabricius é o principal órgão a ser avaliado: pode se encontrar túrgida, edemaciada e às vezes hemorrágica e atrofiada dentro de 7 a 10 dias. Além disso, desidratação e nefrose com rins aumentados são comuns, além de hemorragias nos músculos e na mucosa do proventrículo que são observadas em muitas aves afetadas (Ingrao et al., 2013). Entretanto, a forma subclínica da doença também é muito relevante. A doença de Gumboro pode levar a quadros de imunossupressão principalmente quando as aves entram em contato com o vírus de forma precoce (2 a 3 semanas de vida), por ser o momento em que as aves estão maturando o seu sistema imune. Depleção linfóide é

observada não apenas no tecido da Bursa, mas também nos tecidos linfoides de outros órgãos como baço, timo e medula óssea (Ingrao et al., 2013). Esse quadro pode facilitar infecções secundárias, aumentando, por exemplo, a condenações de carcaças no abatedouro (Sharma et al., 2000), além de comprometer a resposta vacinal para outros agentes, como para a doença de Newcastle (Fan et al., 2020).

As estirpes virais de Gumboro são classificadas em três grupos de acordo com sua patogenicidade: subclínicas, clássicas e hiper virulentas (Van Den Berg et al., 2004). A caracterização do vírus também pode ser feita através de seu fenótipo antigênico, através da análise de sequências de aminoácidos na região hiper variável da proteína VP2 (principal região responsável pela antigenicidade e indução de anticorpos neutralizantes) (Figura 2). A VP2 é um poli peptídeo de 454 aminoácidos que constitui a camada externa capsídeo do viral. A região mais relevante para a representação do domínio antigênico está entre os aminoácidos das posições 206 a 350 da proteína VP2. A maioria das alterações nos aminoácidos entre estirpes do IBDV estão agrupadas nesta região, assim referida como domínio variável. Variações na antigenicidade do IBDV dependem nas mudanças nesta região (Etteradossi, et al., 1998).

**Figura 2.** Estrutura do vírus da doença de Gumboro com destaque para a proteína VP2. O genoma do IBDV consiste em um RNA de fita dupla (dsRNA) e o capsídeo viral contempla as proteínas VP2 e VP3. Poucas cópias da RNA polimerase VP1 dependente de RNA estão presentes dentro do virion. As setas no diagrama (à direita) mostram as duas regiões hidrofílicas na parte mais externa do domínio P (P<sub>BC</sub> e P<sub>HI</sub>) que são críticas para a neutralização do vírus.

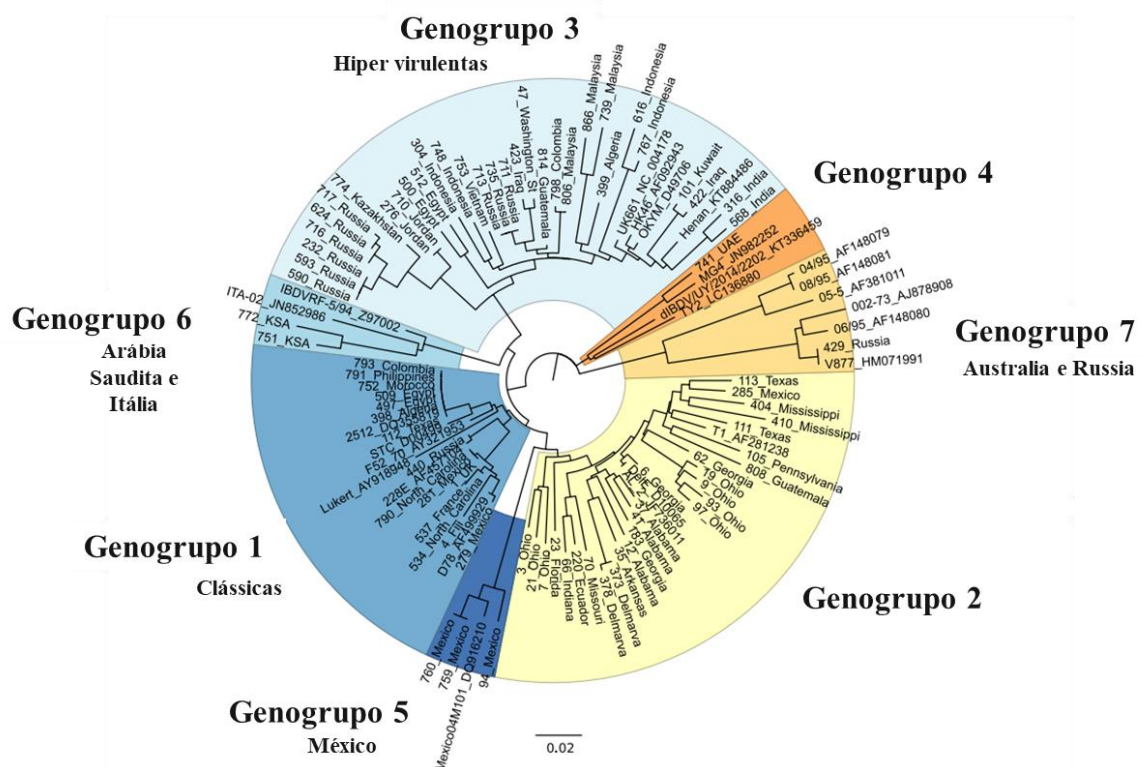


Fonte: Rage et al., 2020



Atualmente a classificação do vírus da doença de Gumboro conta com 7 genogrupos: Genogrupo 1 (estirpes clássicas), Genogrupo 2 (variantes), Genogrupo 3 (hiper virulentas), Genogrupo 4 (linhagem distinta das demais, altamente prevalente na América do Sul), Genogrupo 5 (combinação entre clássicas e variantes presentes no México), Genogrupo 6 (estirpe presente na Arábia Saudita), Genogrupo 7 (estirpe presente na Austrália e na Rússia) (Michel & Jackwood, 2017) (Figura 3).

**Figura 3.** Árvore filogenética das estirpes virais de Gumboro. A classificação é feita atualmente em sete diferentes Genogrupos, baseados na região hiper variável da proteína VP2.



Fonte: adaptado de Michel & Jackwood, 2017

Por se tratar de um vírus muito resistente e de difícil eliminação no ambiente pelas medidas de biossegurança usuais, a vacinação é a principal medida de controle

contra a doença de Gumboro. A imunização das matrizes é feita com o foco na transmissão de imunidade passiva para a progênie e, posteriormente, a vacinação dos próprios pintinhos para induzir a resposta imune ativa. Os anticorpos vindos das matrizes irão proteger a progênie nas primeiras semanas de vida, impedindo a infecção e replicação do vírus de campo até que a ave esteja apta a iniciar a resposta imune ativa (Jackwood, 2017). Mesmo após anos de esforços para o controle da doença de Gumboro, o vírus ainda representa um desafio para a avicultura no mundo todo. Mutações, rearranjos e recombinações genéticas podem ser os principais motivos de falha no controle deste vírus (Wu, et al., 2020).

Na América do Sul, existem trabalhos que demonstram a prevalência de estirpes virais de Gumboro com padrão genético distinto (Genogrupo 4), e que são responsáveis por doença subclínica nas aves, acarretando imunossupressão e perda de desempenho, embora não cause mortalidade e sinais clínicos (Hernández et al., 2015; Tomás et al., 2019). Aparentemente, a origem destas estirpes se deu volta do início dos anos 1930 na Europa Oriental, onde houve pelo menos três eventos de migração destas estirpes para outras regiões: Brasil; Leste Asiático e Canadá; Leste Europeu, Argentina e Uruguai, gerando diferentes subpopulações virais do Genogrupo 4 (De Fraga, 2019; Tomás et al., 2019).

No Brasil, também há indícios de prevalência de vírus de campo mesmo em lotes vacinados com diferentes tecnologias de vacinas (vivas atenuadas, complexo imune, recombinantes). Dentre as principais estirpes encontradas, estão as hiper virulentas e as variantes (Muniz et al., 2018). As estirpes virais com padrão molecular distinto das vacinais também se mostram com alta prevalência no país mesmo em lotes vacinados (De Fraga, 2019; Dias et al., 2021).

Estudos envolvendo amostras de vírus encontrados na América do Sul (incluindo o Brasil) revelam a existência de estirpes virais com padrões moleculares distintos dos vacinais em lotes de aves comerciais, o que sugere a existência da circulação de estirpes virais oriundas de linhagens distintas (Hernández et al., 2015; De

Fraga, 2019; Tomás et al., 2019). Estudos prévios no Brasil, demonstraram que mesmo em idades precoces (18 a 23 dias), já é possível a detecção de estirpes virais do Genogrupo 4 infectando a Bursa de Fabricius das aves e causando lesões (Dias et al., 2021). Entretanto, faltam estudos no Brasil sobre a prevalências destas estirpes em lotes previamente vacinados e sua relação com lesões em órgãos de aves acometidas por essas estirpes virais, o que não permite a completa compreensão sobre o assunto.

Conhecer a patogenicidade da estirpe viral presente no campo é importante para que se possa entender os efeitos causados por ela e para que seja possível adotar ferramentas de controle eficaz. Uma ferramenta que pode ser utilizada para avaliação da patogenicidade de estirpes virais de Gumboro é a histopatologia (por meio da observação das lesões induzidas nos diferentes órgãos pelo vírus) (Zahid et al., 2017; Tomás, et al., 2019). Assim, o presente estudo buscou correlacionar dados histopatológicos com a circulação do Genogrupo 4 no estado brasileiro do Paraná, que é o maior produtor nacional de frangos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Realizar um estudo epidemiológico de estirpes virais da doença de Gumboro que apresentem padrão molecular distinto dos vacinais e correlacionar com lesões encontradas em órgãos do sistema imune.

### **2.2 Específicos**

Realizar a detecção e genotipagem do vírus da doença de Gumboro presente em amostras de Bursa de Fabricius;

Avaliar a prevalência das estirpes com padrões moleculares distintos dos vacinais em lotes vacinados contra a doença de Gumboro;

Avaliar as lesões induzidas pelas variantes do vírus da doença de Gumboro presentes no Paraná em órgãos linfoides (Bursa de Fabricius, timo, baço, tonsilas cecais e medula óssea) através de histopatologia;

Avaliar o desempenho zootécnico dos lotes de acordo com a estirpe viral encontrada;

Identificar possíveis diferenças na prevalência de estirpes virais “de campo” em aves vacinadas com diferentes tecnologias de vacinas contra a doença de Gumboro.

### **3 INFECÇÃO POR ESTIRPES VIRAIS DO GENOGRUPO 4 DO VÍRUS DA DOENÇA DE GUMBORO EM FRANGOS PREVIAMENTE VACINADOS NO ESTADO DO PARANÁ\***

José Emílio de Menezes Dias<sup>1</sup>; Eva Laurice Pereira Cunha Hunka<sup>2</sup>; Diogenes Dezen<sup>3</sup>;  
Breno Castello Branco Beirão<sup>3,4</sup>

\*Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

<sup>1</sup> Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal. Instituto Federal Catarinense (IFC).

<sup>2</sup> Phibro Animal Health Corporation.

<sup>3</sup> Instituto Federal Catarinense.

<sup>4</sup> Universidade Federal do Paraná.

#### **3.1 Introdução**

A doença de Gumboro é uma doença altamente contagiosa, causada por um vírus da família Birnaviridae, pertencente ao gênero Avibirnavirus (Dobos et al., 1979). Este é um vírus icosaédrico não envelopado composto por material genético RNA fita dupla com dois segmentos (A e B) (Müller et al., 1979). A doença de Gumboro foi primeiramente relatada em 1957 nos Estados Unidos na cidade de Gumboro, em Delaware (Cosgrove, 1962) e ainda hoje representa um grande desafio para a indústria avícola em todo o mundo (Michel & Jackwood, 2017).

As aves se infectam pela via oral e o vírus é transportado pelos tecidos pelas células fagocíticas até chegar na Bursa de Fabricius que é o seu principal órgão de predileção e, rapidamente, inicia o seu processo de replicação, acarretando a destruição de células linfóides presentes nas regiões corticais e medulares dos folículos da Bursa de Fabricius, principalmente os linfócitos B. Além disso, há também o aumento no recrutamento de células T na Bursa de Fabricius durante e após a replicação viral, o que também pode contribuir para o dano tecidual através dos

efeitos citotóxicos e de liberação de citocinas (Sharma et al., 2000). Há então a supressão das respostas imunes humorais e celulares (Michel & Jackwood, 2017). Após a fase aguda da infecção, o tecido da Bursa de Fabricius que sofreu depleção linfóide, pode ser “repovoado” pelos linfócitos B (Müller et al., 2003), entretanto, o aumento no número de linfócitos T e sua ação na Bursa de Fabricius pode retardar a regeneração linfóide do tecido (Rautenschlein et al., 2002).

As estirpes virais da doença de Gumboro podem ser classificadas de acordo com sua patogenicidade em três grupos: subclínicas, clássicas e hiper virulentas (Van Den Berg et al., 2004). Há também uma caracterização do vírus através de seu fenótipo antigênico, onde são analisadas as sequências de aminoácidos na região hiper variável da proteína VP2 (principal região responsável pela antigenicidade e indução de anticorpos neutralizantes), onde pequenas alterações podem dificultar a efetividade do controle. Atualmente essa classificação conta com 7 genogrupos: Genogrupo 1 (estirpes clássicas), Genogrupo 2 (variantes), Genogrupo 3 (hiper virulentas), Genogrupo 4 (linhagem distinta das demais, altamente prevalente na América do Sul), Genogrupo 5 (combinação entre clássicas e variantes presentes no México), Genogrupo 6 (estirpe presente na Arábia Saudita), Genogrupo 7 (estirpe presente na Austrália e na Rússia) (Michel & Jackwood, 2017).

Mesmo após anos de esforços para o controle da doença de Gumboro, o vírus ainda representa um desafio para a avicultura no mundo todo. Mutações, rearranjos e recombinações genéticas podem ser os principais motivos de falha no controle deste vírus (Wu, et al., 2020). Ano após ano, há relatos no mundo inteiro de novas estirpes virais de Gumboro causando problemas até mesmo em lotes vacinados. Na América do Sul, existem trabalhos que demonstram a prevalência de estirpes virais de Gumboro com padrão genético distinto (Genogrupo 4/dIBDV), e que são responsáveis por doença subclínica nas aves, acarretando imunossupressão e perda de desempenho, embora não cause mortalidade e sinais clínicos (Hernández et al., 2015; Tomás et al., 2019).

Estudos envolvendo amostras de vírus encontrados na América do Sul (incluindo o Brasil) revelam a existência de estirpes virais com padrão moleculares distintos dos vacinais em lotes de aves comerciais, o que sugere a existência da circulação de estirpes virais com linhagem divergente (Hernández et al., 2015; De Fraga, 2019; Tomás et al., 2019). Estudos prévios no Brasil, demonstraram que mesmo em idades precoces (18 a 23 dias), já é possível a detecção de estirpes virais do Genogrupo 4 infectando a Bursa de Fabricius das aves e causando lesões (Dias et al., 2021). Entretanto, faltam estudos no Brasil sobre a prevalências destas estirpes em lotes previamente vacinados e sua relação com achados de lesões em órgãos de aves acometidas por essas estirpes virais, o que não permite a completa compreensão sobre o assunto.

O objetivo deste estudo foi detectar e caracterizar estirpes virais do Genogrupo 4 em lotes de frangos vacinados com diferentes programas vacinais e buscar entender os impactos dessas estirpes nos principais órgãos linfoides e no desempenho zootécnico.

## **3.2 Material e Métodos**

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto Federal Catarinense, *campus* Araquari/SC, sob o protocolo 393/2022.

### **3.2.1 Amostras**

Foram realizadas coletas de amostras em lotes entre 18 e 23 dias de idade para as análises de biologia molecular e de histopatologia (momento em que a ave está mais susceptível à infecção pelo vírus de Gumboro). Foram coletadas 5 amostras de Bursa de Fabricius por lote para biologia molecular e 5 amostras por lote de Bursa de Fabricius, baço, timo, tonsilas cecais e medula óssea para análise de histopatologia. As amostras foram colhidas em lotes de frangos de corte de três diferentes agroindústrias localizadas nas regiões oeste e norte do estado do Paraná – Brasil, em condições comerciais no período entre maio e julho de 2022. Foram escolhidos 30 lotes (10 por

empresa) para serem colhidas amostras tanto para biologia molecular quanto para histopatologia. Os lotes foram escolhidos de forma aleatória dentre os lotes sem sinais clínicos sugestivos para a doença de Gumboro. As três empresas utilizavam diferentes programas vacinais contra a doença de Gumboro: Empresa A - uma vacina viva de imunocomplexo estirpe W2512 (intermediária plus); Empresa B - uma vacina viva estirpe MB (intermediária); Empresa C - uma vacina vetorizada rHVT+IBD, todas elas aplicadas no incubatório aos 18,5 dias de incubação pela via “in ovo”. O programa vacinal das matrizes, que deram origem à estes lotes de frangos, contava com 2 doses de vacinas vivas e 2 doses de vacinas inativadas contra a doença de Gumboro durante o período de recria (0 a 22 semanas). Por se tratar de uma avaliação epidemiológica, os dados relacionados a sexo, linhagem e tipo de galpão não foram previamente delimitados.

### **3.2.2 Identificação e genotipagem do vírus de Gumboro**

Para análise de biologia molecular, foram colhidas amostras de Bursa de Fabricius de 5 aves por lote com idade entre 18 e 23 dias de vida (após as aves serem eutanasiadas por deslocamento cervical). No total, foram escolhidos 30 lotes, sendo 150 amostras de Bursa de Fabricius representadas em 30 pools (1 por lote). As amostras foram coletadas com auxílio de Flinders Technology Associates (FTA) cards. As amostras foram tratadas em pools de 5 Bursa de Fabricius por lote. O material genético (RNA) foi extraído de acordo com a recomendação do fabricante do kit (NewGene®, Cachoeirinha, RS, Brasil). Todas as amostras foram submetidas à genotipagem por nested-RT-PCR e posteriormente a técnica RFLP utilizando um produto amplificado de 248bp, de acordo com os protocolos já descritos na literatura (Ikuta et al., 2001).



### **3.2.3 Sequenciamento genético**

As 10 amostras positivas na nested-RT-PCR e que apresentaram um padrão molecular distinto dos vacinais e classificado como dIBDV pela técnica de RFLP foram submetidas ao sequenciamento de acordo com os procedimentos pré-estabelecidos pela literatura (De Fraga, et al., 2019).

### **3.2.4 Análise filogenética**

As homologias de sequência foram analisadas usando o algoritmo BLAST de nucleotídeos através do banco de dados GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). As amostras foram comparadas com estirpes virais de referência (dos sete Genogrupos). As sequências de aminoácidos foram alinhadas através do método CLUSTALW e as árvores de Máxima Parcimônia (MP) foram criadas, editadas e visualizadas através do software Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA11).

### **3.2.5 Histopatologia**

Para as análises de histopatologia, foram colhidas amostras de Bursa de Fabricius, baço, timo, tonsilas cecais e medula óssea de 5 aves por lote (após as aves serem eutanasiadas por deslocamento cervical), de aves entre 18 e 23 dias de vida. Os fragmentos das amostras colhidas foram acondicionados em solução com formalina à 10% para fixação do material. Foram avaliadas as características das lesões encontradas no baço, timo, tonsilas cecais e medula óssea de forma qualitativa (qualquer alteração nestes órgãos como: hiperemia, depleção linfoide, necrose, etc., acarretou a classificação como órgão com alteração). As lesões encontradas na Bursa de Fabricius foram avaliadas de acordo com a severidade dos achados mais relevantes (Tabela 1), por se tratar do principal órgão de predileção do vírus de Gumboro.

**Tabela 1.** Critérios utilizados para avaliação histopatológica das amostras de Bursa de Fabricius.

Indicador	Avaliação
Depleção linfoide	Escores de acordo com a Farmacopeia Europeia: 0 (sem depleção linfoide); 1 (1% a 25%); 2 (26% a 50%); 3 (51% a 75%); 4 (76% a 99%); 5 (100%)
Necrose	Escores: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (severo)
Infiltrado inflamatório interfolicular	Escores: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (severo)
Hiperplasia epitelial	Escores: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (severo)
Hiperemia	Escores: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (severo)
Hemorragia	Escores: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (severo)
Edema	Escores: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (severo)
Folículos císticos	Escores: 0 (ausente); 1 (leve); 2 (moderado); 3 (severo)

### 3.2.6 Dados zootécnicos

Dados relacionados à conversão alimentar, ganho de peso diário, índice de eficiência de produção e percentual de mortalidade foram colhidos e compilados para avaliações de acordo com os resultados de biologia molecular.

### 3.2.7 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise qualitativa de frequência (positivo ou negativo) para o vírus de Gumboro com padrão molecular distinto dos vacinais. A média dos escores de lesão encontrados na Bursa de Fabricius e os resultados zootécnicos foram agrupados através dos resultados de biologia molecular e foram submetidos a análises de estatística descritiva, teste de normalidade (Shapiro Wilk) com posterior comparação de médias através do método Kruskal-Wallis seguido do método Dwass-Steel-Critchlow-Fligner (DSCF). O Método de qui-quadrado foi aplicado para avaliação de frequência nos demais órgãos avaliados. Para ambos os métodos, foram considerados significativos os valores de  $P < 0,05$ . Os dados foram tratados através do software Jamovi.

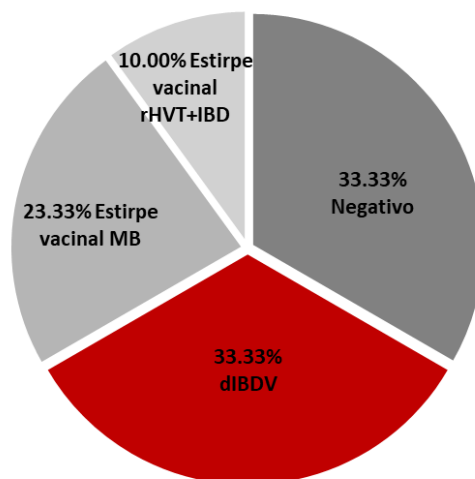
### 3.3 Resultados

Das trinta amostras de Bursa de Fabricius, em dez (33,33%) não houve detecção do vírus de Gumboro (Negativos). Em dez amostras (33,33%) foi identificada a presença de estirpes virais do Genogrupo 4 (dIBDV). Em sete amostras (23,33%) foi identificada a presença da estirpe vacinal MB. Em três amostras (10%) foi identificado material genético da estirpe viral da vacina vetorizada rHVT+IBD (Tabela 2 e Figura 4).

**Tabela 2.** Detecção molecular do vírus de Gumboro em cada lote avaliado. Foi realizado nested-RT-PCR-RFLP de amostras de Bursa de Fabricius colhidas em 30 lotes de frangos comerciais de aves entre 18 e 23 dias de vida de diferentes empresas e com diferentes programas vacinais contra a doença de Gumboro. As amostras positivas para dIBDV foram submetidas ao sequenciamento.

Empresa	Tecnologia de vacina contra Gumboro	Nested-RT-PCR-RFLP	Identificação sequenciamento
A	Vacina de imunocomplexo W2512	Negativo	Não se aplica
	Vacina de imunocomplexo W2512	dIBDV	ID1573
	Vacina de imunocomplexo W2512	Negativo	Não se aplica
	Vacina de imunocomplexo W2512	dIBDV	ID1575
	Vacina de imunocomplexo W2512	Negativo	Não se aplica
	Vacina de imunocomplexo W2512	dIBDV	ID1577
	Vacina de imunocomplexo W2512	Negativo	Não se aplica
	Vacina de imunocomplexo W2512	dIBDV	ID1579
	Vacina de imunocomplexo W2512	Negativo	Não se aplica
	Vacina de imunocomplexo W2512	Negativo	Não se aplica
B	Vacina viva estirpe MB	Estirpe vacinal MB	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	Estirpe vacinal MB	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	Estirpe vacinal MB	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	Estirpe vacinal MB	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	Estirpe vacinal MB	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	Estirpe vacinal MB	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	Estirpe vacinal MB	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	Estirpe vacinal MB	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	Negativo	Não se aplica
	Vacina viva estirpe MB	dIBDV	ID1961
Vacina viva estirpe MB	Negativo	Não se aplica	
C	Vacina vetorizada rHVT+IBD	dIBDV	ID1956
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	Negativo	Não se aplica
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	Negativo	Não se aplica
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	Estirpe vacinal rHVT+IBD	Não se aplica
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	Estirpe vacinal rHVT+IBD	Não se aplica
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	dIBDV	ID1962
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	Estirpe vacinal rHVT+IBD	Não se aplica
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	dIBDV	ID1965
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	dIBDV	ID3138
	Vacina vetorizada rHVT+IBD	dIBDV	ID4297

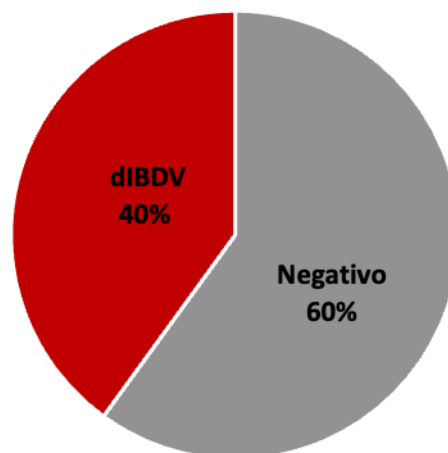
**Figura 4.** Resultados gerais de análises moleculares (nested-RT-PCR-RFLP) de amostras de Bursa de Fabricius colhidas em 30 lotes de frangos comerciais de aves entre 18 e 23 dias de vida de diferentes empresas e com diferentes programas vacinais contra a doença de Gumboro.



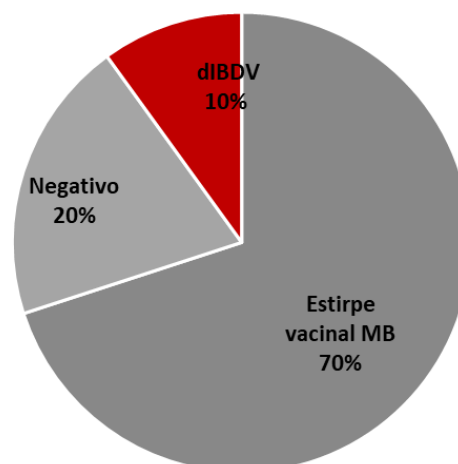
Das 10 amostras colhidas na Empresa A, que utilizava como programa vacinal uma vacina viva de imunocomplexo estirpe W2512, em seis amostras (60%) não foram identificadas nenhuma estirpe viral de Gumboro (Negativo) e em quatro amostras (40%) foram identificadas estirpes virais do Genogrupo 4 (dIBDV) (Figura 5). Das 10 amostras colhidas na Empresa B, que utilizava como programa vacinal uma vacina viva estirpe MB, em sete amostras (70%) foram identificadas a presença da estirpe vacinal MB, em duas amostras (20%) não foram identificadas nenhuma estirpe viral de Gumboro (Negativo) e em uma (10%) foi identificada a presença da estirpe viral do Genogrupo 4 (dIBDV) (Figura 6). Das 10 amostras colhidas na Empresa C, que utilizava como programa vacinal uma vacina vetorizada rHVT+IBD, em cinco amostras (50%) foram identificadas a presença da estirpe viral do Genogrupo 4 (dIBDV), em três amostras (30%) foram identificadas a presença de material genético da estirpe vacinal rHVT+IBD, e em duas amostras (20%) não foram identificadas nenhuma estirpe viral de Gumboro (Negativo) (Figura 7). Entretanto, não foi observada diferença significativa

nas frequências de detecção das estirpes dIBDV pelo método de qui-quadrado ( $P=0.142$ ) (Tabela 3).

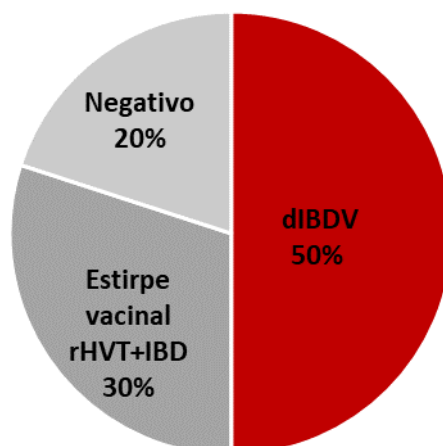
**Figura 5.** Resultados de análises moleculares (nested-RT-PCR-RFLP) de amostras de Bursa de Fabricius colhidas em 10 lotes comerciais de frangos de corte entre 18 e 23 dias de vida vacinados com uma vacina viva de imunocomplexo estirpe W2512 (Empresa A).



**Figura 6.** Resultados de análises moleculares (nested-RT-PCR-RFLP) de amostras de Bursa de Fabricius colhidas em 10 lotes comerciais de frangos de corte entre 18 e 23 dias de vida vacinados com uma vacina viva estirpe MB (Empresa B).



**Figura 7.** Resultados de análises moleculares (nested-RT-PCR-RFLP) de amostras de Bursa de Fabricius colhidas em 10 lotes comerciais de frangos de corte entre 18 e 23 dias de vida vacinados com uma vacina vetorizada rHVT+IBD (Empresa C).



**Tabela 3.** Avaliação da frequência de detecção das estirpes dIBDV por programa vacinal. Empresa A: usava uma vacina viva de imunocomplexo estirpe W2512 (intermediária plus); Empresa B: usava uma vacina viva estirpe MB (intermediária); Empresa C: usava uma vacina vetorizada rHVT+IBD, todas elas aplicadas no incubatório aos 18,5 dias de incubação. Análise estatística pelo método de qui-quadrado ( $P > 0,05$ ).

Programa vacinal	Presença de dIBDV		Total
	Sim	Não	
Imunocomplexo W2512	4 40%	6 60%	10 100%
Vacina viva estirpe MB	1 10%	9 90%	10 100%
rHVT+IBD	5 50%	5 50%	10 100%

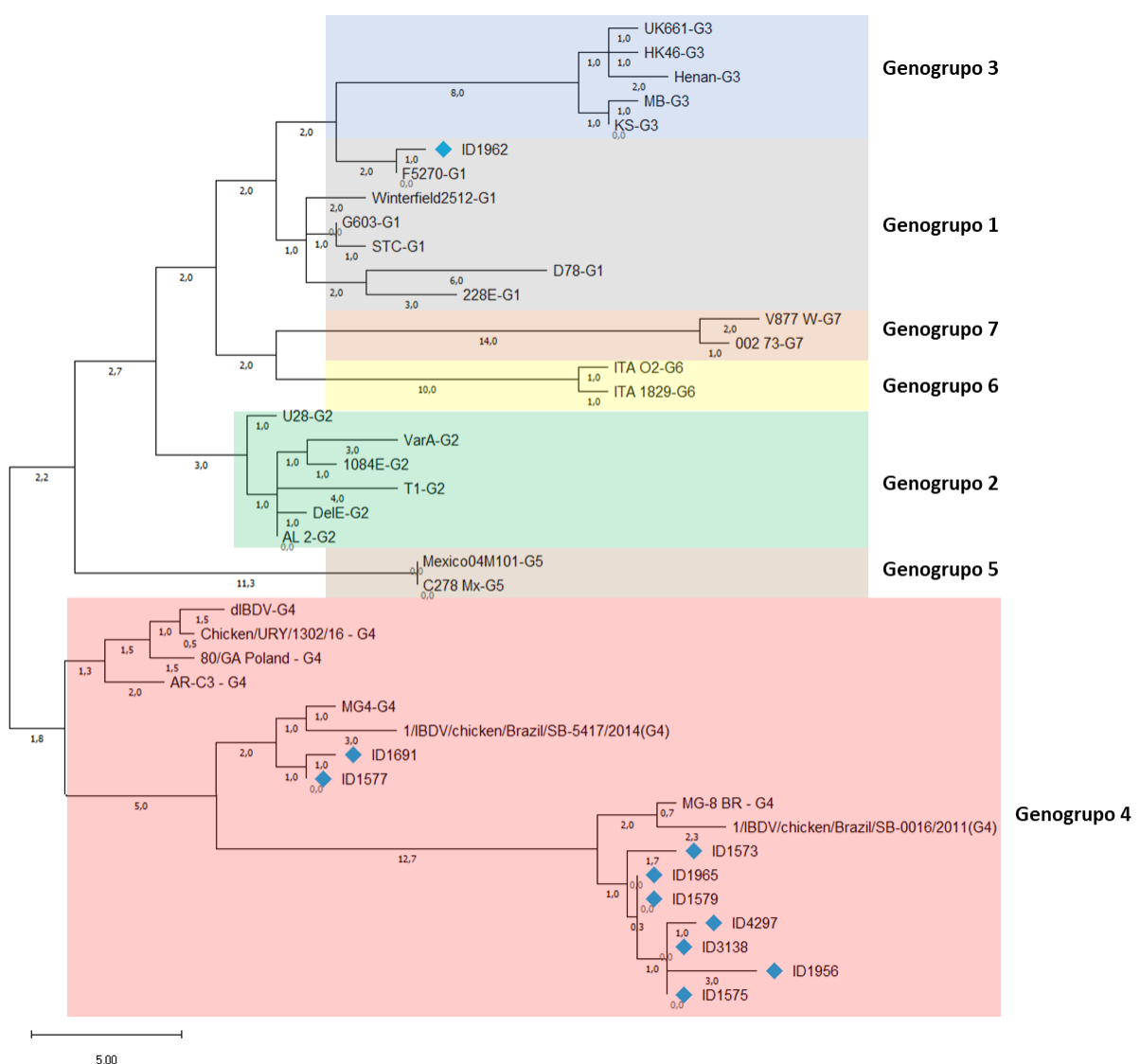
$P = 0.142$

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo método qui-quadrado.

As dez amostras identificadas como pertencentes aos Genogrupo 4 (dIBDV) foram submetidas ao sequenciamento genético e análise filogenética. As amostras foram identificadas da seguinte forma: ID1573, ID1575, ID1577, ID1579, ID1691,

ID1956, ID1962, ID1965, ID3138, ID4297. Todos eles foram agrupados com estirpes virais do Genogrupo 4, com exceção do ID1962, que foi agrupado como pertencente ao Genogrupo 1 (Figura 8). A árvore filogenética foi construída usando o método de Máxima Parcimônia (MP). A árvore MP foi obtida usando o algoritmo *Subtree-Pruning-Regrafting* (SPR) com nível de busca 1 em que as árvores iniciais foram obtidas pela adição aleatória de sequências (10 repetições). Esta análise envolveu 41 sequências de nucleotídeos. Havia um total de 168 posições no conjunto de dados final.

**Figura 8.** Análise filogenética dos dIBDV deste estudo. A árvore filogenética foi construída usando o método de Máxima Parcimônia (MP). A árvore MP foi obtida usando o algoritmo Subtree-Pruning-Regrafting (SPR) com nível de busca 1 em que as árvores iniciais foram obtidas pela adição aleatória de sequências (10 repetições). Esta análise envolveu 41 sequências de nucleotídeos. Havia um total de 168 posições no conjunto de dados final. Foram usadas sequências de referências para os sete Genogrupos do vírus de Gumboro a as sequências obtidas neste estudo. As sequências do estudo estão indicadas pelo símbolo ◆ ao lado da identificação do isolado.





A histopatologia da Bursa de Fabricius evidenciou diferenças significativas com relação às lesões relacionadas à depleção linfóide, necrose, infiltrado inflamatório interfolicular, hiperplasia epitelial, hiperemia e edema. Não foi identificada diferença significativa nos achados referentes à hemorragia e folículos císticos. O escore médio total das lesões também apresentou diferença significativa entre os grupos avaliados (Tabela 4).

**Tabela 4.** Escores médios de lesões de Bursa de Fabricius de frangos de corte entre 18 e 23 dias de vida, de acordo com a estirpe viral detectada através da nested-RT-PCR-RFLP.

Nested-RT-PCR-RFLP	Escore médio								Escore médio total
	Depleção linfóide	Necrose	Infiltrado inflamatório interfolicular	Hiperplasia epitelial	Hiperemia	Hemorragia	Edema	Folículos císticos	
dIBDV	2.2b	0.68b	0.96c	0.54b	1.36b	0	1.28b	0.06	7.26b
Estirpe vacinal MB	2.14b	0.66b	0.914c	0.63b	1.11b	0	1b	0	6.46b
Estirpe vacinal rHVT+IBD	1.67b	0a	0.13b	0a	1.13b	0	1.27b	0	4.2b
Negativo	1a	0a	0a	0.06a	0.54a	0	0.48a	0	2.08a
P-value	<0.001	<0.001	0.046	<0.001	0.02	-	<0.001	0.216	<0.001

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo método de comparação de médias através do método Kruskal-Wallis seguido do método Dwass-Steel-Critchlow-Fligner (DSCF)

Foi feita uma avaliação de lesão de Bursa baseado na presença de estirpes dIBDV por empresa, para identificar possíveis diferenças nas lesões. Foram observadas diferenças significativas nos parâmetros de depleção linfóide, necrose, hiperplasia epitelial, hiperemia e edema. Sendo os escores mais baixos de lesão nas aves da Empresa B (Tabela 5).

**Tabela 5.** Escores médios de lesões de Bursa de Fabricius de frangos de corte entre 18 e 23 dias de vida, infectados por dIBDV, comparado por cada empresa.

Nested-RT-PCR-RFLP	Identificação sequenciamento	Empresa	Escore médio							
			Depleção linfóide	Necrose	Infiltrado inflamatório interfolicular	Hiperplasia epitelial	Hiperemia	Hemorragia	Edema	Folículos císticos
dIBDV	ID1573	Empresa A	2ab	0.6ab	0.75	0.5ab	1.25ab	0	1.05b	0.1
dIBDV	ID1575									
dIBDV	ID1577									
dIBDV	ID1579									
dIBDV	ID1691	Empresa B	1b	0b	0.2	0b	0.6b	0	0.2b	0
dIBDV	ID1956	Empresa C	2.6a	0.88a	1.28	0.68a	1.6a	0	1.68a	0.04
dIBDV	ID1962									
dIBDV	ID1965									
dIBDV	ID3138									
dIBDV	ID4279									
P-value			0.002	0.017	0.054	0.016	0.034	-	0.019	0.7

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo método de comparação de médias através do método Kruskal-Wallis seguido do método Dwass-Steel-Critchlow-Fligner (DSCF)

Nas avaliações histopatológicas dos outros órgãos linfóides (baço, timo, tonsilas cecais e medula óssea), foram avaliados todos os lotes em que foram identificadas estirpes virais de Gumboro na Bursa de Fabricius através da biologia molecular. Foi realizado o teste de associação entre a presença de estirpes virais do Genogrupo 4 e alterações nos respectivos órgãos, e, embora haja diferenças numéricas na frequência dos achados de alterações relacionados à estirpe viral do Genogrupo 4, os resultados não foram significativos (Tabela 6).

**Tabela 6.** Avaliação da frequência de lesões em baço, timo, tonsilas cecais e medula óssea em aves infectadas por dIBDV, através do método de qui-quadrado.

Presença de dIBDV	Lesões no Baço		Lesões no Timo		Lesões de Tonsilas Cecais		Lesões de Medula Óssea	
	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim
Não	5	5	8	2	8	2	9	1
	50%	50%	80%	20%	80%	20%	90%	10%
Sim	4	6	4	6	4	6	5	5
	40%	60%	40%	60%	40%	60%	50%	50%
Total	9	11	12	8	12	8	14	6
	45%	55%	60%	40%	60%	40%	70%	30%
P-value	P=0.653		P=0.068		P=0.068		P=0.051	

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo método qui-quadrado.

Com relação aos dados zootécnicos, não foram identificadas diferenças significativas entre os grupos avaliados no ganho de peso diário, índice de eficiência de produção e na mortalidade. Os resultados de conversão alimentar foram mais baixos no grupo em que foi detectada a estirpe vacinal MB (Tabela 7).

**Tabela 7.** Desempenho zootécnico de lotes comerciais de frangos de corte de acordo com a estirpe viral detectada na Bursa de Fabricius através da nested-RT-PCR-RFLP entre 18 e 23 dias de vida.

nested-RT-PCR-RFLP	Conversão alimentar	Ganho de peso diário	Índice de eficiência de produção	Mortalidade (%)
dIBDV	1.77b	69	350	11.3
Estirpe vacinal MB	1.64a	68.8	400	4.74
Estirpe vacinal rHVT+IBD	1.7b	64.6	353	7.31
Negativo	1.68b	71.7	398	7.28
P-value	0.042	0.199	0.079	0.086

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo método de comparação de médias através do método Kruskal-Wallis seguido do método Dwass-Steel-Critchlow-Fligner (DSCF)

### 3.4 Discussão

#### 3.4.1 Prevalência do vírus de Gumboro

Das amostras de Bursa de Fabricius de aves entre 18 e 23 dias de vida avaliadas através de biologia molecular, 66,67% foram positivas para o vírus da doença de Gumboro. Estes resultados sugerem que na idade avaliada, a maioria das aves estavam susceptíveis à infecção pelo vírus de Gumboro. Apenas em 33.33% das amostras, não foi detectado material genético do vírus de Gumboro. Nessa idade e com os programas vacinais avaliados, o esperado é que houvesse um percentual maior de aves negativas. Como se trata de uma idade precoce, o percentual de aves negativas provavelmente se deve ao efeito dos anticorpos maternos, que protegem as aves nas primeiras semanas de vida, impedindo a replicação do vírus de Gumboro (Alam et al., 2002).

Das amostras positivas para o vírus de Gumboro, 33,33% eram estirpes do Genogrupo 4 (dIBDV). Estas foram as únicas estirpes virais diferentes das vacinais encontradas. Estes resultados divergem do encontrado por De Fraga et al. (2019), que encontraram as estirpes clássicas de Gumboro como a mais prevalente nas amostras avaliadas (50,93%), muitas delas, provavelmente, amostras vacinais. Esta divergência pode ser decorrente do momento da coleta, visto que neste estudo, as coletas foram direcionadas para uma idade precoce, 18 a 23 dias, momento em que a ave está na transição entre imunidade passiva e imunidade ativa.

Na empresa que usava como programa vacinal uma vacina de imunocomplexo estirpe W2512, foi observada alta prevalência do vírus dIBDV (40%). Os resultados divergem do encontrado por Muniz et al. (2018), que em estudo epidemiológico de amostras no Brasil, encontrou menor prevalência de vírus de campo em aves vacinadas com uma vacina de imunocomplexo (19%). Não foi detectada a presença da estirpe vacinal W2512, diferente do que foi observado por Cazaban et al. (2018) que identificaram a presença da estirpe vacinal a partir dos 18 dias de vida, entretanto, a avaliação que fizeram foi realizada em aves provenientes de matrizes que não receberam vacina inativada contra a doença de Gumboro. Neste caso o resultado deste estudo pode ter sido influenciado pela presença dos anticorpos maternos, alterando a dinâmica de colonização do vírus vacinal da vacina de imunocomplexo.

Na empresa que usava como programa vacinal uma vacina vetorizada rHVT+IBD também foi observada alta prevalência do vírus dIBDV (50%), embora a estirpe vacinal também tenha sido encontrada em 30% das amostras. Resultado este, divergente do observado por Muniz et al. (2018), que identificou a estirpe vacinal da vacina vetorizada somente em 19% das amostras. Estes resultados podem ter sido influenciados também pelo momento da coleta (18 a 23 dias), momento este em que as aves estão na transição entre imunidade passiva e imunidade ativa. Por se tratar de uma vacina vetorizada contendo o vírus de Marek (HVT) expressando a proteína VP2 do vírus de Gumboro, o fato de haver anticorpos maternos para Gumboro não afeta o

início da imunidade ativa (Le Gros et al., 2009). Em estudo realizado na Europa, estirpes virais de campo também foram detectadas com maior frequência em lotes vacinados com vacina vetorizada (Ramon et al., 2022).

Na empresa que usava como programa vacinal uma vacina viva atenuada estirpe MB, em 70% das amostras foi identificada a presença da estirpe vacinal MB. Estirpes virais do Genogrupo 4 foram encontradas em 10% das amostras. Este resultado vai de encontro com o observado por Ashash et al. (2019) que observou replicação pela estirpe vacinal MB acontecendo pelo menos 4 dias antes da estirpe vacinal W2512 em aves com níveis de anticorpos maternos semelhantes. Essa imunidade precoce induzida pela vacina estirpe MB aplicada no incubatório pode estar ligada ao seu modo de ação, por ser uma vacina viva de vírus livre (sem estar complexada à anticorpos), quando aplicado, o vírus vacinal fica presente de forma viável nos macrófagos localizados no baço (órgão com baixos níveis de anticorpos maternos nas primeiras semanas) e com o declínio natural dos anticorpos maternos, o vírus inicia sua replicação nos órgãos de predileção (Bursa de Fabricius) e induz resposta imune ativa (Wein, et al., 2023).

#### **3.4.2 Análise filogenética**

Das 10 amostras positivadas para o Genogrupo 4 na análise de nested-RT-PCR e RFLP e submetidas ao sequenciamento, somente 1 (ID 1962) não foi agrupado no Genogrupo 4. Essa amostra foi agrupada no Genogrupo 1, representado pelas estirpes clássicas. Isso pode ser decorrente da presença da forma como foi feita a coleta dos materiais. Como as amostras foram processadas em pool de 5 amostras, pode ser que em parte delas houvesse presença de material genético da estirpe vacinal rHVT+IBD (Genogrupo 1).

As outras 9 amostras foram agrupadas ao Genogrupo 4. Os resultados vão de encontro com o relatado na literatura, que relata diferentes momentos de migração destas estirpes, resultado em algumas diferenças e subpopulações do mesmo

Genogrupo (De Fraga, 2019; Tomás et al., 2019). As amostras deste estudo foram agrupadas com outras amostras Brasileiras do Genogrupo 4. Em outro clado foram agrupadas as estirpes de referência da Europa, Argentina e Uruguai. Os resultados avaliados neste estudo mostram que mesmo dentro das amostras Brasileiras, podem ocorrer a formação de subpopulações, como observado entre as estirpes agrupadas nos clados das estirpes MG4 e MG8.

### **3.4.3 Histopatologia**

Na avaliação histopatológica das amostras de Bursa de Fabricius, as amostras negativas para o vírus de Gumboro tiveram lesões significativamente ( $P < 0.001$ ) mais baixas do que nas amostras positivas. Em concordância com o observado por Zahid et al. (2017), que observaram lesões na Bursa após replicação do IBDV. Nos parâmetros de depleção linfóide e edema, embora os resultados tenham diferido numericamente, não tiveram diferenças significativas de acordo com a estirpe viral encontrada (dIBDV, estirpe vacinal MB ou estirpe vacinal rHVT+IBD). Estes resultados são diferentes dos encontrados por Camilotti et al. (2016), que observaram menor depleção linfóide na Bursa de Fabricius de aves vacinadas com uma vacina vetorizada, quando comparado com vacinas com vírus vivo replicante.

Nas amostras em que a estirpe vacinal da vacina vetorizada foi encontrada, os resultados de necrose, infiltrado inflamatório interfolicular, hiperplasia epitelial foram significativamente mais leves. Estes resultados são esperados, uma vez que a vacina vetorizada rHVT+IBD não possui o vírus de Gumboro com capacidade de replicação no hospedeiro, e com isso, as lesões decorrentes da replicação do vírus vacinal não é esperada (Bublott et al., 2007).

Nas amostras de Bursa em que foram identificadas a presença da estirpe vacinal MB e as estirpes dIBDV do Genogrupo 4 não houve diferenças significativas, embora as lesões encontradas nas Bursas infectadas pelas estirpes dIBDV tenham sido numericamente mais elevadas. Estes resultados sugerem que as estirpes virais do

Genogrupo 4 presentes no país, ou pelo menos no estado do Paraná, são capazes de induzir lesões na Bursa de Fabricius de aves, numericamente mais marcante do que estirpes vacinais. Resultados semelhantes foram encontrados por diferentes autores ao estudar a patogenicidade de estirpes virais dIBDV, e identificando lesões decorrentes de sua replicação (Yamazaki et al., 2017; Tomás et al., 2019).

Nos demais órgãos avaliados (baço, timo, tonsilas cecais e medula óssea), não foi observado diferenças significativas entre a associação das lesões encontradas e a presença ou não de estirpes de dIBDV pelo método de Qui-Quadrado. Entretanto, numericamente, foi observado uma frequência maior de lesões nestes órgãos quando havia a presença de estirpes virais dIBDV, principalmente no timo, tonsilas cecais e medula óssea. 80% das amostras negativas para estirpes dIBDV não tinham lesões no timo e tonsilas cecais, enquanto 60% das aves infectadas por estirpes dIBDV tinha lesões nestes órgãos. 90% das amostras negativas para estirpes dIBDV não tinham lesões na medula óssea, enquanto 50% das amostras positivas para estirpes dIBDV estavam associadas com lesão neste órgão. É necessário entender se esta tendência de prevalência das lesões é em decorrência da presença desta estirpe viral ou se essas lesões são causadas por outros fatores. Estudos prévios conduzidos por Carballeda et al. (2014) já identificaram o aumento de citocinas pró inflamatórias induzido pela replicação do IBDV em órgãos como Bursa, baço e duodeno. Além disso, depleção linfóide em órgãos como Bursa, baço e timo decorrentes da infecção por IBDV já foram descritos (Sharma, et al., 2000; Uddin et al., 2012).

Com relação as lesões encontradas nos órgãos avaliados, é necessário se levar em consideração a idade dos lotes. Neste estudo, foi realizada uma amostragem precoce em lotes vacinados. Sendo assim, as lesões encontradas nos órgãos avaliados podem estar sujeitas à variáveis como: nível e queda natural dos anticorpos maternos; início de replicação (lesões iniciais foram do pico de replicação). Além disso é interessante um estudo que consiga avaliar as lesões induzidas exclusivamente pelas estirpes dIBDV, bloqueando outras variáveis como a participação de outros agentes

infecciosos e situações de estresse, além de considerar infecções em idades precoces. Além disso, é necessário entender como se dá o curso da infecção por estirpes virais por dIBDV ao longo da vida dos frangos. Algumas estirpes do IBDV são capazes de induzir maior migração de linfócitos T, o que auxilia na resposta imune, entretanto, pode comprometer a recuperação tecidual necessária após a replicação viral (Rautenschlein et al., 2002).

O desempenho final dos lotes infectados por estirpes virais dIBDV foram piores do que os lotes infectados por estirpes vacinais ou negativos para o IBDV. Embora não tenha sido identificada diferença significativa nos parâmetros de ganho de peso diário, índice de eficiência de produção e mortalidade, os resultados foram numericamente piores. Essa informação é relevante, pois demonstra a importância das estirpes dIBDV na indústria avícola, e mesmo não havendo uma diferença significativa (provavelmente pelo tamanho reduzido da amostra), já traria grandes prejuízos para as empresas com relação à mortalidade e desempenho. Com relação à conversão alimentar, os lotes positivos para a estirpe vacinal MB tiveram o melhor desempenho (1.64 sendo  $P=0,042$ ). Infecções subclínicas, como aquelas induzidas por estirpes variantes de Gumboro, geralmente estão relacionadas com maiores mortalidades, piora na conversão alimentar e condenações no abatedouro (Zachar et al., 2016).

### **3.5 Conclusão**

Estirpes virais do Genogrupo 4 (dIBDV) estão amplamente disseminadas no território do Paraná, maior estado produtor e exportador de frangos do Brasil. Essas estirpes estão presentes mesmo em lotes vacinados com diferentes tecnologias de vacinas aplicadas no incubatório. A infecção pelas estirpes virais dIBDV acontecem de forma precoce, sendo possível identificar alta prevalência já aos 18 a 23 dias de vida. A infecção por estas estirpes provavelmente está ligada à janela imunológica entre o fim da imunidade passiva e início da imunidade ativa. A vacinação com uma vacina viva estirpe MB no incubatório se mostrou mais eficiente para evitar infecção por estirpes



dIBDV, provavelmente pela característica de ser uma vacina viva e induzir resposta imune precoce. As estirpes dIBDV são capazes de causar lesões na Bursa de Fabricius. As lesões induzidas por estirpes dIBDV foram numericamente mais altas, mas não diferiram significativamente daquelas induzidas pela replicação de um vírus vacinal de uma vacina intermediária. Foi identificada maior prevalência de lesões em baço, timo, Tonsilas cecais e Medula óssea em aves infectadas por estirpes dIBDV, entretanto, os valores não tiveram diferença significativa. Os resultados zootécnicos dos lotes infectados por estirpes dIBDV foram numericamente piores, entretanto, os resultados não diferiram significativamente. Lotes onde a estirpe vacinal MB foi identificada demonstrou melhor resultado em conversão alimentar. Novos estudos são necessários para compreender a patogenicidade das estirpes virais dIBDV presentes no Brasil, bloqueando outras variáveis como a presença de agentes infecciosos e condições de estresse para avaliar o real impacto que estas estirpes causam nas aves e no desempenho dos lotes.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Foi evidenciado que as estirpes virais do Genogrupo 4 (dIBDV) estão amplamente disseminadas no território do Paraná, maior estado produtor e exportador de frangos do Brasil. A infecção pelas estirpes virais dIBDV acontecem de forma precoce, sendo possível identificar alta prevalência já aos 18 a 23 dias de vida. As estirpes dIBDV são capazes de causar lesões na Bursa de Fabricius. As lesões induzidas por estirpes dIBDV foram numericamente mais altas, mas não diferiram significativamente daquelas induzidas pela replicação de um vírus vacinal de uma vacina intermediária. Foi identificada maior prevalência de lesões em baço, timo, tonsilas cecais e medula óssea em aves infectadas por estirpes dIBDV, entretanto, os valores não tiveram diferença significativa. Os resultados zootécnicos dos lotes infectados por estirpes dIBDV foram numericamente piores, entretanto, os resultados não diferiram significativamente. Lotes onde a estirpe vacinal MB foi identificada demonstrou melhor resultado em conversão alimentar. Novos estudos são necessários para compreender a patogenicidade das estirpes virais dIBDV presentes no Brasil, bloqueando outras variáveis como a presença de agentes infecciosos e condições de estresse para avaliar o real impacto que estas estirpes causam nas aves e no desempenho dos lotes.

## 5 REFERÊNCIAS

ALAM, J.; RAHMAN, M. M.; SIL, B. K.; KHAN, M. S. R. Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (Gumboro) with live vaccine in broiler. **International Journal of Poultry Science**, v. 1, p. 98-102, 2002.

ASHASH, U.; NOACH, C.; PERELMAN, B.; COSTELLO, C.; SANSALONE, P.; BRAZIL, T.; RAVIV, Z. In ovo and day of hatch application of a live infectious bursal disease virus vaccine to commercial broilers. **Avian diseases**, v. 63, n. 4, p. 713-720, 2019.

BUBLOT, M.; PRITCHARD, N.; LE GROS, F. X.; GOUTEBROZE, S. Use of a vectored vaccine against infectious bursal disease of chickens in the face of high-titred maternally derived antibody. **Journal of comparative pathology**, v. 137, p. S81-S84, 2007.

CAMILOTTI, E.; MORAES, L. B. D.; FURIAN, T. Q.; BORGES, K. A.; MORAES, H. L. D. S.; SALLE, C. T. P. Infectious bursal disease: pathogenicity and immunogenicity of vaccines. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 18, p. 303-308, 2016.

CARBALLEDA, J. M.; ZOTH, S. C.; GÓMEZ, E.; LUCERO, M. S.; GRAVISACO, M. J.; BERINSTEIN, A. Immune response elicited by the oral administration of an intermediate strain of IBDV in chickens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, p. 1521-1525, 2014.

CAZABAN, C.; SWART, W. B. F.; RIETEMA, R. M. W.; WIT, J.; PALYA, V.; GARDIN, Y. Field assessment of an immune-complex infectious bursal disease vaccine in chicks born to non-hyperimmunized broiler breeders. **Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry**, v. 6, p. 302, 2018.

COSGROVE, A.S. An apparently new disease of chickens: avian nephrosis. **Avian Diseases**, 6, 385-389, 1962.

DE FRAGA, A. P.; GRAF, T.; COLTRO, V. P.; IKUTA, N.; FONSECA, A. S. K.; MAJÓ, N.; LUNGE, V. R. Phylodynamic analyses of Brazilian antigenic variants of infectious bursal disease virus. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 73, p. 159-166, 2019.

DIAS, J.E.M.; MARTELLO, R. M.; CULHARI, E. A.; MIYAZAKI, A.; LEITE, J. F. C.; BIANCHET, L.; HUNKA, E. L. Influência da tecnologia da vacina contra a doença de Gumboro na taxa de recuperação da estirpe vacinal. In: **Anais CONFERÊNCIA FACTA 2021**. p. 270-273, 2021.

DOBOS, P.; HILL, B. J.; HALLETT, R.; KELLS, D. T. C.; BECHT, H.; TENINGES, D. Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes. **Journal of virology**, v. 32, n. 2, p. 593-605, 1979.

ETERRADOSSI, N.; ARNAULD, C.; TOQUIN, D.; RIVALLAN, G. Critical amino acid changes in VP2 variable domain are associated with typical and atypical antigenicity in very virulent infectious bursal disease viruses. **Archives of virology**, 143, 1627-1636, 1998.

FAN, L.; WANG, Y.; JIANG, B.; CHEN, M.; GAO, L.; LI, K.; GAO Y.; CUI, H.; PAN, Q.; LIU, C.; ZHANG, Y.; WANG, X.; QI, X. Novel variant infectious bursal disease virus suppresses Newcastle disease vaccination in broiler and layer chickens. **Poultry Science**, v. 99, n. 12, p. 6542-6548, 2020.

HERNÁNDEZ, M.; TOMÁS, G.; MARANDINO, A.; IRAOLA, G.; MAYA, L.; MATTION, N.; HERNÁNDEZ, D.; VILLEGAS, P.; BANDA, A.; PANZERA, Y.; PÉREZ, R. Genetic characterization of South American infectious bursal disease virus reveals the existence of a distinct worldwide-spread genetic lineage. **Avian Pathology**, v. 44, n. 3, p. 212-221, 2015.

IKUTA, N.; EL-ATTRACHE, J.; VILLEGAS, P.; GARCÍA, G.; LUNGE, V. R.; FONSECA, A. S. K.; OLIVEIRA, C.; MARQUES, E. K. Molecular characterization of Brazilian infectious bursal disease viruses. **Avian Diseases**, v. 45, n. 2. P. 297–306, 2001.

INGRAO, F.; RAUW, F.; LAMBRECHT, B.; VAN DEN BERG, T. Infectious Bursal Disease: A complex host–pathogen interaction. **Developmental & Comparative Immunology**, 41(3), 429-438, 2013.

JACKWOOD, D. J.; SAIF, Y. M.; MOORHEAD, P. D. Immunogenicity and antigenicity of infectious bursal disease virus serotypes I and II in chickens. **Avian Diseases**, 29, 1184–1194, 1985.

JACKWOOD, D. J. Advances in vaccine research against economically important viral diseases of food animals: infectious bursal disease virus. **Veterinary Microbiology**. 206, 121–125, 2017.

LE GROS, F. X.; DANCER, A.; GIACOMINI, C.; PIZZONI, L.; BUBLLOT, M.; GRAZIANI, M.; PRANDINI, F. Field efficacy trial of a novel HVT-IBD vector vaccine for 1-day-old broilers. **Vaccine**, v. 27, n. 4, p. 592-596, 2009.

MICHEL, L. O.; JACKWOOD, D. J. Classification of infectious bursal disease virus into genogroups. **Archives of virology**, v. 162, n. 12, p. 3661-3670, 2017.

MÜLLER, H.; SCHOLTISSEK, C.; BECHT, H. The genome of infectious bursal disease virus consists of two segments of double-stranded RNA. **Journal of Virology**, 31, 584 – 589, 1979.

MÜLLER, H.; ISLAM, M. R.; RAUE, R. Research on infectious bursal disease—the past, the present and the future. **Veterinary microbiology**, v. 97, n. 1-2, p. 153-165, 2003.

MUNIZ, E. C.; VERDI, R.; JACKWOOD, D. J.; KUCHPEL, D.; RESENDE, M. S.; MATTOS, J. C. Q.; COOKSON, K. Molecular epidemiologic survey of infectious bursal disease viruses in broiler farms raised under different vaccination programs. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 27, n. 2, p. 253-261, 2018.

RAGE, E.; MARUSIC, C.; LICO, C.; BASCHIERI, S.; DONINI, M. Current state-of-the-art in the use of plants for the production of recombinant vaccines against infectious bursal disease virus. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, p. 2287-2296, 2020.

RAMON, G.; LEGNARDI, M.; CECCHINATO, M.; CAZABAN, C.; TUCCIARONE, C. M.; FIORENTINI, L.; GAMBI, L.; MATO, T.; BERTO, G.; KOUTOULIS, K.; FRANZO, G. Efficacy of live attenuated, vector and immune complex infectious bursal disease virus (IBDV) vaccines in preventing field strain bursa colonization: A European multicentric study. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 978901, 2022.

RAUTENSCHLEIN, S.; YEH, H.; NJENGA, MK.; SHARMA, JM. Role of intrabursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery. **Archives of virology**, 147:285–304, 2002.

SHARMA, M.; KIM, I. J.; RAUTENSCHLEIN, S.; YEH, H. Y. Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 24, n. 2-3, p. 223-235, 2000.

TOMÁS,G.; MARANDINO, A.; COURTILLON, C.; AMELOT, M.; KEITA, A.; PIKULA, A.; HERNÁNDEZ, M.; HERNÁNDEZ, D.; VAGNOZZI, A.; PANZERA, Y.; DOMANSKA-BLICHARZ, K.; ETERRADOSSI, N.; PÉREZ, R.; SOUBIES, S. M. Antigenicity, pathogenicity and immunosuppressive effect caused by a South American isolate of infectious bursal disease virus belonging to the “distinct” genetic lineage. **Avian Pathology**, v. 48, n. 3, p. 245-254, 2019.

UDDIN, M. M.; ISLAM, M. S.; BASU, J.; KHAN, M. Z. I. Distribución y Cuantificación de Linfocitos en los Órganos Linfoides Principales de Pollos de Engorda Infectados Naturalmente con Gumboro. **International Journal of Morphology**, v. 30, n. 4, p. 1585-1589, 2012.

VAN DEN BERG TP.; MORALES D.; ETERRADOSSI N.; RIVALLAN G.; TOQUIN, D.; RAUE, R.; ZIERENBERG, K.; ZHANG, M. F.; ZHU, Y. P.; WANG, C. Q.; CHEN, G. C.; LIM, B. L.; MULLER, H. Assessment of genetic, antigenic and pathotypic criteria for the characterization of IBDV strains. **Avian pathology**, 33:470–476, 2004.

WEIN, Y.; LOEB, V.; ASMARE, A.; TAL, S.; FINGER, A.; FRIEDMAN, A. Immunization and Host Responses to MB-1, a Live Hatchery Vaccine against Infectious Bursal Disease. **Vaccines**, 11(8), 1316, 2023.

WU, T.; WANG, Y.; LI, H.; FAN, L.; JIAN, N.; GAO, L.; LI, K.; GAO, Y.; LIU, C.; CUI, H.; PAN, Q.; ZHANG, Y.; WANG, X.; QI, Z. Naturally occurring homologous recombination between novel variant infectious bursal disease virus and intermediate vaccine strain. **Veterinary microbiology**, v. 245, p. 108700, 2020.

YAMAZAKI, K.; OHTA, H.; KAWAI, T.; YAMAGUCHI, T.; OBI, T.; TAKASE, K. Characterization of variant infectious bursal disease virus from a broiler farm in Japan using immunized sentinel chickens. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 79, n. 1, p. 175-183, 2017

ZACHAR, T.; POPOWICH, S.; GOODHOPE, B.; KNEZACEK, T.; OJKIC, D.; WILLSON, P.; AHMED, K. A.; GOMIS, S. A 5-year study of the incidence and economic impact of variant infectious bursal disease viruses on broiler production in Saskatchewan, Canada. **Canadian journal of veterinary research**, v. 80, n. 4, p. 255-261, 2016.

ZAHID, B.; ASLAM, A.; CHAUDHRY, Z. I.; AKHTAR, R. Biochemical and histopathological changes in immune and non-immune broilers after inoculation of field infectious bursal disease virus. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 49, n. 4, 2017.

## 6 ANEXOS



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO - MEC  
Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense – Campus Araquari

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO INSTITUTO FEDERAL  
CATARINENSE, CÂMPUS ARAQUARI**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado **“Caracterização genética de estirpes do vírus da doença de Gumboro com padrão molecular distinto dos vacinais presentes em frangos no Brasil”** de protocolo número **“393/2022”** sob a responsabilidade de **“Diogenes Dezen”** que envolve a **utilização** de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de **Pesquisa** encontra-se de acordo com os preceitos da Lei no 11.794 de 08 de Outubro de 2008, do Decreto 6.899 de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais IFC-Araquari em reunião de **“20/04/2022”**.

Vigência do projeto:	01/05/2022 a 01/11/2022
Espécie/Linhagem:	Aves / Cobb/Ross/Hubbard
Nº de Animais:	2.000 animais
Peso/Idade:	2,5kg / 15 a 45 dias
Sexo:	1000 machos e 1000 fêmeas
Origem:	Aviários de produção comercial de frangos de corte

**OBS:**

Em caso de não execução do projeto, deve ser solicitada a retirada do mesmo em até 60 dias após a emissão do parecer conforme orientação disponível em <http://araquari.ifc.edu.br/ceua/>

60 dias após a execução do projeto, deve ser submetido relatório final para avaliação do comitê conforme regimento do CEUA Artigo 25 §4:

§ 4º. O proponente de um projeto/protocolo deve, ao final da execução do mesmo, encaminhar à CEUA/IFC o relatório final contendo informações básicas baseando-se nos itens descritos no formulário de submissão. O não envio de relatórios de projetos/protocolos já concluídos implicará na não aprovação de novos projetos/protocolos do mesmo proponente.

Juliano Santos Gueretz  
Prof. EBTT (Siape nº1810731)  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais do IFC - Campus Araquari  
Portaria nº 1565/2021/Reitoria



BR 280, Km 27 – Caixa Postal 21  
Araquari/SC – CEP: 89.245 -000  
(47) 3803 -7200 / ifc@ifc-araquari.edu.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE  
SISTEMA INTEGRADO DE PATRIMÔNIO, ADMINISTRAÇÃO E  
CONTRATOS

FOLHA DE ASSINATURAS

---

*Emitido em 26/04/2022*

**DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS Nº 8739/2022 - CGES/ARA (11.01.02.39)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

*(Assinado digitalmente em 26/04/2022 09:50)*

JULIANO SANTOS GUERETZ

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLÓGICO

CGES/ARA (11.01.02.39)

Matricula: 1810731

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número:  
**8739**, ano: **2022**, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS**, data de emissão: **26/04/2022** e o código de  
verificação: **aea1514e8d**