

VÍRUS ENTÉRICOS RNA FITA DUPLA, SEGMENTADO, EM AVES:
ROTAVÍRUS, REOVÍRUS E PICOBIRNAVÍRUS¹

ALICE FERNANDES ALFIERI⁽²⁾
CLAUDIA YURIKA TAMEHIRO⁽³⁾
AMAURI ALCINDO ALFIERI⁽²⁾

ALFIERI, A.F.; TAMEHIRO, C.Y.; ALFIERI, A.A. Vírus entéricos RNA fita dupla, segmentado, em aves: Rotavírus, Reovírus e Picobirnavírus. *Semina: Ci. Agrárias, Londrina*, v. 21, n. 1, p. 101-113, mar. 2000.

RESUMO: As infecções entéricas são responsáveis por consideráveis prejuízos econômicos à indústria avícola representados por perda de peso, baixa conversão alimentar, custos diretos e indiretos com tratamentos e por aumento na taxa de mortalidade. As patologias intestinais em aves, tanto com manifestação local quanto geral, podem ser determinadas por bactérias, protozoários e vírus, atuando de forma isolada ou em associação. Com relação a etiologia viral, vários gêneros têm sido isolados a partir de aves com enteropatias. Porém, dois gêneros na família *Reoviridae*, o rotavírus e o reovírus são encontrados com maior frequência em fezes de frangos de corte e/ou galinhas poedeiras. Na maioria dos inquéritos epidemiológicos esses vírus estão associados a sinais clínicos de enterite. Esta revisão tem por objetivo apresentar alguns tópicos relativos aos agentes etiológicos (*Rotavírus*, *Reovírus* e *Picobirnavírus*), à doença clínica e aos métodos de diagnóstico, controle e profilaxia da infecção.

PALAVRAS-CHAVES: Aves; diarreia; rotavírus; reovírus; Picobirnavírus.

1 INTRODUÇÃO

Dentre os diversos sistemas de produção animal, a avicultura destaca-se como uma das atividades agropecuárias mais tecnificadas. Em todo o mundo a indústria avícola é uma das principais fontes geradoras de proteínas de origem animal, destinadas ao consumo humano. A cadeia produtiva da avicultura tem grande importância no agronegócio brasileiro mantendo o Brasil, já há muitos anos, em uma posição de destaque na avicultura mundial. O Brasil é o terceiro maior produtor, o segundo exportador e o sétimo em consumo *per capita* de carne de frango em todo o mundo (Salle *et al.*, 1998).

Vários fatores como genéticos, nutricionais e os ligados ao tipo de manejo zootécnico-sanitário podem influenciar os índices de produtividade dos plantéis de frangos de corte. No aspecto sanitário as doenças infecciosas, de ocorrência tanto de forma epidêmica quanto endêmica, contribuem significativamente com a redução da taxa de desfrute dos plantéis. Os prejuízos econômicos devidos à presença de infecções nos rebanhos podem ser diretos e indiretos. Com frequência, as

infecções determinam aumento nos índices de mortalidade e morbidade, redução no ganho de peso, alteração nos índices de conversão alimentar e custos adicionais com medicamentos, mão de obra, e com serviços técnicos especializados.

Várias enfermidades podem comprometer os plantéis avícolas. Os distúrbios entéricos, caracterizados por diarreia, desidratação, perda de peso e mortalidade são, juntamente com os problemas respiratórios, os que mais contribuem com reduções na produtividade, com conseqüentes implicações econômicas. As patologias intestinais em aves, com manifestação clínica local e/ou geral, podem ser determinadas por bactérias, protozoários e vírus, atuando de forma isolada ou em associação.

Com relação à etiologia viral, vários gêneros têm sido isolados a partir de aves com enteropatias e/ou clinicamente sadias incluindo o rotavírus, reovírus, adenovírus, enterovírus, coronavírus, herpesvírus, parvovírus, astrovírus, calicivírus, togavírus, pseudopicornavírus e picobirnavírus (Alfieri, 1992; Reynolds, 1995). Porém, dois gêneros da família *Reoviridae*, o rotavírus e o

¹ Apoio Financeiro: CNPq, CAPES e CPG/UEL.

² Laboratório de Virologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Estadual de Londrina (UEL), Cx.P. 6001, Londrina/PR., CEP. 86051-990. e-mail: alfieri@uel.br

³ Aluno do Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal (nível: Mestrado), DMVP/CCA/UEL.

orthoreovirus são encontrados com maior frequência em fezes de aves de postura e/ou de corte. Esses vírus estão quase sempre associados à enterite, diarreia e sinais clínicos sistêmicos como depressão e anorexia. Em aves, a rotavirose e a reovirose entérica são ainda responsáveis por reduções na conversão alimentar e no ganho de peso, desuniformidade do lote, refugagem e aumento nos índices de mortalidade (Rosenberger & Olson, 1995; McNulty, 1997).

2 ROTAVÍRUS AVIÁRIO (RVA)

A infecção pelo RVA foi relatada pela primeira vez em 1977 por Bergeland et al., nos Estados Unidos, a partir do conteúdo intestinal de perus de duas a três semanas de idade, com diarreia aquosa e alta mortalidade. Desde então, o RVA tem sido identificado, em todo o mundo, em uma variedade de espécies aviárias incluindo frango de corte, galinha de postura, peru, pombo, galinha d'Angola, pato e faisão, com sinais clínicos de enterite ou de aves aparentemente saudáveis (McNulty, 1997). No Brasil, o RVA foi identificado pela primeira vez por Alfieri et al. (1989a) em amostras de fezes de frangos de corte com diarreia.

As partículas de rotavírus (RV), isoladas tanto de mamíferos quanto de aves, quando examinadas à microscopia eletrônica (ME) são semelhantes morfológicamente. A nomenclatura deriva da palavra latina *rota*, que significa roda, devido à sua aparência à ME. O virion, com aproximadamente 70 nm de diâmetro e densidade em gradiente de cloreto de césio de 1,34 g/cm³, não apresenta envelope glicolipoproteico e é constituído por um capsídeo triplo, de simetria icosaédrica. O genoma é composto por 11 segmentos de RNA fita dupla (fd) (Kapikian & Chanock, 1996).

O RV é relativamente estável a tratamentos químicos (éter, clorofórmio, trifluorotricloroetano-FREON), físicos (sonicação, congelamento e descongelamento) e térmicos (37°C/1h). Após cinco minutos de incubação a 50°C, 80% da infecciosidade é perdida e após trinta minutos a perda atinge 99%. Embora ocorra redução no título, a infecciosidade é mantida em pH 3,0 ou pH 10,0. Após o tratamento das partículas víricas com enzimas proteolíticas como a tripsina, obtém-se aumento da infecciosidade. Este procedimento muitas vezes é essencial para o isolamento e propagação *in vitro* do RVA. Baixos níveis de CaCl₂ (1,5 a 15 mM) estabilizam as partículas víricas. A

perda da infecciosidade é observada após o tratamento com agentes quelantes como o EDTA, que reduzem a concentração de cálcio e convertem as partículas de capsídeo triplo em capsídeo simples. O RV não é inativado pelos desinfetantes comuns como o hipoclorito de sódio a 10-12% e formaldeído a 10%, o que dificulta o seu controle no meio ambiente. O etanol a 95% exerce ação virucida eficiente (Estes et al., 1979; Tan & Schnagl, 1981).

Os genes do RV codificam proteínas estruturais (VP), localizadas na partícula vírica, e proteínas não estruturais (NS) encontradas em células infectadas, mas não em partículas maduras. As proteínas estruturais VP1, VP2, VP3 estão localizadas no capsídeo interno do virion. A VP6, que constitui o capsídeo intermediário é a proteína mais abundante do RV. As proteínas VP4 e VP7, localizadas no capsídeo externo, são os antígenos que induzem a produção de anticorpos neutralizantes (Estes & Cohen, 1989).

Sob a ação de enzimas proteolíticas, a VP4 é a precursora da VP5 e da VP8. A clivagem da VP4 aumenta a infecciosidade do RV de aves e de mamíferos, pois esta proteína está associada com a restrição de replicação de algumas estirpes de RV em cultivo celular e em camundongos. O aumento da infecciosidade tem sido relacionado com o aparecimento da VP5. A atividade hemaglutinante do RVA, e de outros RV, também está associada à VP4. Quando partículas completas são tratadas com EDTA, para a remoção do capsídeo externo, as partículas resultantes não exibem mais a atividade de hemaglutinação (Burns et al., 1988).

O RV é classificado sorologicamente segundo as características antigênicas das proteínas dos capsídeos intermediário e externo. Com base na especificidade da proteína VP6 (capsídeo intermediário), o RV é classificado em sete grupos sorológicos designados de **A** a **G**. O sorogrupo **A** tem sido encontrado infectando humanos, primatas, bovinos, suínos, eqüinos, caninos, felinos, leporinos, murinos e aves. O sorogrupo **B** tem sido detectado em estirpes de RV identificadas em humanos, bovinos, suínos, ovinos e murinos. O sorogrupo **C** é encontrado em RV de origem humana, suína e bovina. Os sorogrupos **D**, **F** e **G** são isolados exclusivamente em aves, e o sorogrupo **E** foi detectado, em suínos (Hoshino & Kapikian, 1994).

As proteínas VP4 e VP7 são importantes na proteção contra a infecção. Com isto, a exemplo do vírus da Influenza, foi proposta uma dupla classificação para o RV. Esta classificação binária

divide o RV do sorogrupo A em sorotipos, determinados por reações sorológicas, e/ou genótipos, determinados pela análise do ácido nucléico viral. A especificidade antigênica relacionada à VP7 é designada sorotipo **G** enquanto que para a VP4 é identificada como sorotipo **P**. A diversidade de G e P sorotipos encontrada em estirpes de RV grupo A de várias espécies de mamíferos e aves é muito grande. Até o momento já foram definidos, por provas sorológicas, 14 G e 10 P sorotipos (Kapikian & Chanock, 1996).

Kool & Holmes (1993), em trabalhos de seqüenciamento do gene VP7 da estirpes de RVA denominada Ty-1, isolada de frangos de corte, concluíram que, assim como observado em estirpes de RV grupo A de origem humana e de animais domésticos, também em aves pode haver mais de um sorotipo G.

Com base na massa molecular (PM), os 11 segmentos de RNA fd do RV podem ser distribuídos em quatro classes que são facilmente demonstradas pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA). Estes segmentos são numerados pela ordem de migração em EGPA. O segmento de menor migração, e conseqüente maior PM, é designado um. O segmento de maior migração em EGPA, e menor PM, é designado onze. Com freqüência, o genoma do sorogrupo A de RV é composto por quatro segmentos de RNA fd de alto PM (segmentos 1 a 4); dois segmentos de PM intermediário (segmentos 5 e 6); três segmentos de pequeno PM (7, 8 e 9) e dois de PM muito pequeno (10 e 11), constituindo respectivamente as classes I, II, III e IV (Lourenço et al., 1981).

O padrão de migração do genoma do RV em EGPA, distribuído em quatro classes de tamanhos diferentes, contrasta com o padrão do Reovírus (REO) que tem 10 segmentos genômicos distribuídos em três classes: grande, média e pequena. Porém, esta designação é relativa porque o décimo, ou menor segmento de RNA do REO, apresenta maior PM que o quinto segmento do RV. O perfil de migração dos 11 segmentos genômicos dos RV em EGPA, ou eletroferotipos, é utilizado para a classificação das amostras em diferentes eletroferogrupos. O eletroferogrupo A, que corresponde ao sorogrupo A e é o mais predominante na natureza e apresenta como principal característica a co-migração dos segmentos 7, 8 e 9 formando uma trinca (White & Fenner, 1994).

Em estirpes de RV identificadas em aves a análise do padrão de migração, especialmente do

quinto segmento, do *triplet* dos segmentos 7, 8 e 9 e do *doublet* dos segmentos 10 e 11, tem sido utilizada na caracterização do RVA e na investigação da epidemiologia molecular desta virose. Uma característica peculiar do perfil do RNA, ou eletroferotipo, do RVA grupo A, em relação aos RV de outras espécies animais, é que o quinto segmento genômico tem menor mobilidade eletroforética, permanecendo muito próximo, ou mesmo se sobrepondo, ao quarto segmento. Outra importante característica do sorogrupo A do RVA é que os segmentos genômicos 10 e 11, por terem massas moleculares semelhantes, co-migram e são de difícil resolução em EGPA (Todd & McNulty, 1986).

Diferentes padrões de RNA podem surgir por vários mecanismos como rearranjo genético, hibridização, mutação e recombinação. Com isto, o eletroferotipo não pode ser utilizado como único critério para a classificação de uma amostra de vírus em um grupo específico (A - G). Contudo, como o padrão de RNA normalmente permanece constante em amostras viricas individuais, a análise do ácido nucléico é importante nos estudos de epidemiologia molecular e de formas de transmissão, e para a monitoria de focos ou surtos da doença (Estes & Cohen, 1989).

McNulty *et al.* (1979), através da imunomicroscopia eletrônica (IME), detectaram em frangos de corte e perus estirpes de RVA que possuíam antígeno comum com o grupo A de RV de mamífero. O genoma deste RVA foi designado de eletroferogrupo 1 (Todd *et al.*, 1980). Pela técnica de imunofluorescência, McNulty *et al.* (1984b) identificaram quatro sorogrupos de RVA em frangos de corte, sendo que os vírus de cada sorogrupo exibiam diferentes eletroferotipos.

Trabalhos subseqüentes revelaram a existência de RVA com perfil genômico atípico, caracterizado principalmente por trocas nas taxas de migração dos segmentos 7, 8 e 9, que foram classificados em quatro eletroferogrupos distintos, designados eletroferogrupos 2 a 5 (Todd & McNulty, 1986).

3 ROTAVIROSE AVIÁRIA

A rotavirose aviária é uma infecção intestinal que geralmente apresenta alta morbidade e baixa mortalidade. A transmissão do RVA ocorre pela via fecal-oral, através de água e alimentos contaminados, e é favorecida pelo alto título de vírus (10^{10} - 10^{12} partículas virais/grama de fezes) presentes nas fezes de aves infectadas e com diarreia (McNulty, 1997). O período de incubação

é curto, de um a sete dias, e o pico de excreção viral ocorre dois a cinco dias pós-infecção (Yason & Schat, 1987). A transmissão vertical é desconhecida, porém há relatos do isolamento de RV em perus com três dias de idade, podendo sugerir a ocorrência da transmissão transovariana ou através da contaminação via casca do ovo (Theil & Saif, 1987). Vetores biológicos como a mosca doméstica e larvas de besouros podem ter participação na epidemiologia da rotavirose aviária (Tan *et al.*, 1997).

A grande resistência às condições adversas como o pH ácido e também a enzimas proteolíticas, permite que as partículas virais alcancem as células epiteliais do intestino delgado, infectando as células do ápice das vilosidades. Como conseqüência, ocorre degeneração, necrose e descamação celular, com ou sem subsequente atrofia das vilosidades (Yason & Schat, 1987). Estudos experimentais realizados em frangos de corte e perus demonstraram, por imunofluorescência direta (IF), que o RVA do grupo A replica-se em maior título no duodeno, enquanto que as células do jejuno e do íleo são mais permissíveis à infecção pelo RV do grupo D (McNulty, 1997).

Em inoculações experimentais do RVA em perus, as lesões histopatológicas mais freqüentemente observadas foram: i) vacuolização basal; ii) descamação dos enterócitos; iii) atrofia e fusão das vilosidades; iv) infiltração de leucócitos na lâmina própria; e v) degeneração e inflamação das vilosidades do duodeno e do jejuno. O íleo, ceco, cólon, e a cloaca não apresentaram lesões macro e/ou microscópicas. Em frangos de corte foi observado discreto infiltrado leucocitário na lâmina própria e atrofia moderada das vilosidades, principalmente do íleo (Yason & Schat, 1987).

A infecção nas espécies aviárias pode manifestar-se desde uma forma subclínica até uma doença grave. A diarreia é o principal sinal clínico da doença podendo ainda ser observada desidratação, redução no ganho de peso e alta mortalidade. Quando o diagnóstico laboratorial não é realizado, algumas infecções podem passar despercebidas e serem tratadas, baseando-se apenas nos sinais clínicos, como um problema decorrente do estresse por manejo ineficiente ou como infecções por bactérias ou protozoários.

A variação na virulência das estirpes víricas, que em aves podem ser de alta, média, ou de baixa patogenicidade, é um dos principais fatores responsáveis por diferenças na intensidade dos sinais clínicos observados nas infecções experimentais e em aves naturalmente infectadas. Outro fator agravante é que, sob condições de

campo, as infecções simultâneas com diferentes sorogrupos de RV são muito freqüentes. Como diferentes estirpes de RVA podem infectar áreas distintas do intestino delgado, é provável que os efeitos da dupla infecção sejam mais graves que a infecção com uma única estirpe viral (McNulty *et al.*, 1983). Outras condições também podem influenciar na gravidade dos sinais clínicos como: i) a dose infectante; ii) a idade das aves no momento da infecção; iii) a associação com outros microrganismos entéricos como vírus (adenovírus, reovírus), bactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp), protozoários (*Eimeria* sp); iv) as falhas de manejo e; v) o estresse.

Em virtude da maturidade imunológica, as aves com idade superior a quatro semanas apresentam uma resposta imune humoral mais rápida e intensa que as aves jovens. Esta característica imunológica favorece as infecções de campo em aves jovens, pois a maior freqüência da rotavirose aviária é observada até o primeiro mês de vida. Como o desenvolvimento da imunidade em mucosas, e principalmente de IgA secretora específica, segue o modelo padrão do desenvolvimento de anticorpos séricos, repetidos ciclos de infecção podem ocorrer antes que as aves desenvolvam uma resposta imunológica suficiente para protegê-las contra a infecção pelo RVA. Anticorpos maternos, transferidos passivamente ao embrião, podem ser detectados em aves com até três a quatro semanas de idade. Entretanto, a presença desses anticorpos passivos, aparentemente, não afeta a susceptibilidade de frangos e perus inoculados experimentalmente (Yason & Schat, 1987).

Meulemans *et al.* (1985), demonstraram que, apesar da presença de anticorpos homólogos de origem materna, aves com um, oito e quinze dias de idade foram susceptíveis à infecção pelo RVA. Estes achados ratificam as observações de McNulty *et al.* (1983) que também descreveram que a imunidade passiva de origem materna não é suficientemente protetora contra a infecção pelo RVA. Entretanto, resultados conflitantes são descritos. Perus SPF (*Specific Pathogen Free*) hiperimunizados com RVA do grupo A, duas semanas antes do início da postura, através da imunidade passiva protegeram sua progênie do desafio com vírus homólogo, realizado na primeira semana de vida. Nesta situação a proteção foi considerada título-dependente (Shawky *et al.*, 1993).

Infecções heterólogas por RVA de diferentes espécies aviárias têm sido descritas. Yason & Schat (1987), descreveram que RV de faisões e perus podem infectar frangos. Até o início da

década de 90 não havia evidências que RV de origem aviária pudesse infectar mamíferos e vice-versa. Porém, Brüssow *et al.* (1992), isolaram de bezerros de três dias de idade com diarreia, rotavírus *avian-like* do grupo A. Em Belém no Estado do Pará, Brasil, Gusmão *et al.* (1994), também detectaram rotavírus *avian-like* em três crianças hospitalizadas.

O diagnóstico do RVA, através da identificação da partícula viral nas fezes ou no conteúdo intestinal, pode ser realizado pela ME que é uma das técnicas mais utilizadas, particularmente por sua especificidade e por permitir a detecção de outros vírus entéricos. O emprego da IME aumenta consideravelmente a sensibilidade do sistema (Theil *et al.*, 1986).

A técnica de cultivo celular para o isolamento viral somente foi difundida e utilizada após o desenvolvimento da metodologia que inclui o tratamento do inóculo vírico com enzimas proteolíticas e a utilização da linhagem celular MA 104 (rim de macaco Rhesus neonato) (Fukusho *et al.*, 1981; Sato *et al.*, 1981). Melhores resultados são obtidos quando cultivos primários com células renais e/ou hepáticas de embriões de galinha são utilizados (Myers & Schat, 1989). As dificuldades freqüentemente encontradas com relação ao cultivo do RVA, tornam este método desaconselhável quando o objetivo é o diagnóstico. Porém, esta é uma técnica indispensável para o desenvolvimento de estudos e pesquisas com RV, para os trabalhos de sorotipagem e mesmo para uma eventual produção de vacinas.

Para a detecção de antígenos do RV, o teste de ELISA é o método mais empregado, particularmente pelo seu limiar de detecção, sensibilidade e especificidade, rapidez e facilidade de execução e por permitir o processamento de um grande número de amostras simultaneamente. Entretanto, os RV atípicos não são detectados pelos kits comerciais. Esta possibilidade de resultado falso-negativo deve-se a diferenças antigênicas em VP6 que é o principal antígeno identificado nos sistemas de ELISA grupo A-específicos (Alfieri *et al.*, 1989a).

A EGPA é a metodologia mais utilizada para a detecção do ácido nucléico do RVA. A técnica é relativamente sensível pois permite, após a coloração do gel com nitrato de prata, a visualização dos segmentos genômicos do RNA viral em concentração \geq a 10ng. A técnica de EGPA apresenta como vantagens adicionais: i) a identificação de RVA atípicos; ii) o estudo da epidemiologia molecular da rotavirose, através da análise dos eletroferotipos; iii) a detecção de outros

vírus com genoma constituído por RNA fd segmentado como o Reovírus (REO) e o Picobirnavírus (PBV) (Alfieri *et al.*, 1988 e 1989b).

Outras técnicas laboratoriais também são utilizadas para a detecção de antígenos e/ou genoma dos RV tais como: i) imunofluorescência (IF); ii) látex aglutinação (LA); iii) fixação de complemento (FC); iv) imunodifusão em ágar-gel (IDAG); v) hemaglutinação (HA) e vi) reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) (Xu *et al.*, 1990; McNulty, 1997).

Embora a ocorrência de RVA atípicos (não-sorogrupo/eletroferogrupo A) em aves pareça superior à observada em mamíferos (Chasey & Davies, 1984; McNulty *et al.*, 1984b; Alfieri, 1992), os levantamentos epidemiológicos com o objetivo de verificar a prevalência, ou mesmo a ocorrência, desses vírus aviários são relativamente raros.

Alfieri *et al.* (1989a), no Brasil, analisaram através das técnicas de ELISA grupo A (mono e policlonal) e EGPA, 122 amostras de fezes de frangos de corte, sendo 66 provenientes do Estado do Paraná e 56 do Estado de Minas Gerais. O ácido nucléico de RVA atípico foi identificado por EGPA em 22 amostras, sendo cinco do Paraná e dezessete de Minas Gerais. A infecção foi mais comum em aves com duas a três semanas de idade. Todas as 22 amostras de fezes positivas para o RVA foram negativas, quando analisadas por dois sistemas de ELISA (mono e policlonal), indicando que as amostras não relacionavam-se ao sorogrupo A de RV de mamíferos.

Andral *et al.* (1985), na França, utilizaram as metodologias de ME, cultivo celular e EGPA para a análise de 35 amostras de fezes diarreicas de perus com duas a quatro semanas de idade. Em 12 amostras foi possível o isolamento e/ou a detecção vírica sendo que quatro referiam-se ao RVA atípico.

Theil *et al.* (1986) examinaram por IME e EGPA, 79 amostras de fezes de perus com idade média de quatro semanas, provenientes de 65 plantéis de Ohio e Wisconsin (EUA). A IME revelou partículas semelhantes ao RV em 48 amostras e a EGPA identificou o ácido nucléico característico do RVA, em 41 amostras.

Reynolds *et al.* (1987), em Ohio (EUA), pesquisaram através de ME e EGPA vírus entéricos em 91 plantéis de perus, dos quais 60 apresentavam aves com diarreia. Os vírus encontrados foram astrovírus (78%), *rotavirus-like* (67%), rotavírus (22%) e rotavírus atípicos (12%). Em plantéis com problemas entéricos somente 10% das amostras foram negativas. Não foi possível a detecção de vírus em 48% das amostras de fezes colhidas em plantéis constituídos por aves

cl clinicamente sadias. Estes resultados demonstram a relação direta entre os achados virológicos e os sinais clínicos de diarreia.

Lozano *et al.* (1992), analisaram por ME e EGPA, 58 amostras de fezes de frangos e perus obtidas diretamente do intestino e 38 amostras de fezes inoculadas em cultivo de células renais de embrião de galinha. As duas técnicas apresentaram resultados semelhantes na identificação do RVA e do REO, a partir do conteúdo intestinal. Nas amostras isoladas em cultivo celular, a identificação através de EGPA foi eficaz somente para o reovírus. Os autores concluíram que pela rapidez nos resultados e sensibilidade, a EGPA foi a técnica mais eficiente.

Com o objetivo de verificar a prevalência de anticorpos anti-RVA em soro de aves, inquéritos sorológicos também têm sido efetuados em várias partes do mundo. McNulty *et al.* (1979), utilizando a técnica de imunofluorescência indireta (IFI), detectaram a presença de anticorpos anti-RVA grupo A em 40% das 202 amostras de soro de frangos de corte e em 60% das 75 amostras de soro de galinhas poedeiras. Também utilizando a técnica de IFI, Pearson *et al.* (1982) detectaram anticorpos anti-RVA grupo A em 82,6% das 87 amostras de soro de frango de corte colhidas em Louisiana (EUA).

McNulty *et al.* (1984a) estudaram a prevalência de anticorpos para o RVA grupo A e RVA atípicos em 96 soros colhidos em 14 plantéis de galinhas da Irlanda do Norte. Neste trabalho foi verificado que 83% dos soros continham anticorpos para um ou outro sorogrupo de RVA, indicando uma alta frequência de infecção tanto pelo RV convencional quanto pelo atípico.

Anticorpos anti-RVA grupo A também foram identificados em 30,4% de 23 plantéis de aves SPF provenientes da Holanda, França, Alemanha, EUA e Austrália (McNulty *et al.*, 1989).

Em plantéis de aves não são preconizados tratamentos específicos para controlar os quadros clínicos de diarreia. Porém, os sinais clínicos podem ser minimizados através de um manejo zootécnico-sanitário adequado que inclui entre outras condutas: i) controle de temperatura, ventilação e umidade relativa do ar no interior do barracão; ii) água de boa qualidade; iii) descarte de aves refugos e com sinais de doença; iv) manejo *all in/all out*; v) vazio sanitário; vi) limpeza e desinfecção rigorosas das instalações e vii) controle de prováveis transmissores como roedores e insetos.

Devido à ocorrência de um grande número de diferentes sorogrupos, e provavelmente de sorotipos, bem como as dificuldades encontradas

no isolamento do RVA em altos títulos em cultivo celular, até o momento não foram desenvolvidas vacinas para o controle da rotavirose aviária.

4 REOVÍRUS AVIÁRIO (REO AV)

O Reovírus aviário (REO AV) pertence à família *Reoviridae*, gênero *orthoreovirus*, onde são encontrados vírus que podem ser incluídos em dois grupos antigênicos distintos, um determinando infecções em mamíferos (REO MAM) e outro em aves (REO AV). O reovírus foi isolado inicialmente dos tratos respiratório e entérico, de humanos e de animais, sem associação com doença clínica. Com isto foi sugerido o nome reovirus (REO) que deriva das iniciais das palavras *R*espiratory *E*nteric *O*rphan (White & Fenner, 1994).

O REO AV foi isolado pela primeira vez em 1954, por Fahey & Crawley em frangos com problema respiratório crônico sendo posteriormente caracterizado por Petek *et al.* (1967). No Brasil, o primeiro isolamento desse vírus foi realizado por Bottino *et al.* (1975), a partir de aves reprodutoras com processos inflamatórios articulares. O REO AV já foi descrito em várias espécies aviárias destacando-se entre elas frango de corte, galinha de postura, peru, codorna e ganso (Rosenberger & Olson, 1995).

A partícula viral, não envelopada, possui aproximadamente 70 a 85 nm de diâmetro e densidade de 1,36 a 1,37g/cm³ em gradiente de cloreto de céσιο. O capsídeo duplo, de simetria icosaédrica, envolve o genoma composto por 10 segmentos, de RNA fd. De acordo com a distribuição das massas moleculares dos dez segmentos o genoma do REO pode ser subdividido em três classes distintas. As classes denominadas **L** (*large*) **M** (*medium*) e **S** (*small*) codificam as proteínas **I** (*lambda*) **m** (*mu*) e **s** (*sigma*), respectivamente (White & Fenner, 1994). A diferença mais marcante no padrão de migração dos segmentos genômicos em EGPA entre o REO AV e o REO MAM é a taxa de migração do segmento S1, que para o REO AV tem PM consideravelmente superior ao do REO MAM (Robertson & Wilcox, 1986).

Gouvea & Schnitzer (1982) compararam o perfil de migração dos 10 segmentos de RNA fd de REO AV isolados de casos clínicos de campo. Foi observado um grande polimorfismo na migração dos segmentos genômicos tanto em estirpes pertencentes a um mesmo sorotipo quanto em estirpes de diferentes sorotipos. Wu *et al.* (1994) analisaram, também por EGPA, uma estirpe de vírus vacinal e nove estirpes de vírus

de campo e encontraram diferentes eletroferotipos que estariam relacionados com o *status* da doença.

As oito proteínas estruturais do REO AV podem ser designadas, de acordo com suas massas moleculares e respectivo perfil de migração em SDS-EGPA, como: i) grandes proteínas (três); ii) proteínas de massa molecular intermediária (duas) e iii) pequenas proteínas (três) (Schnitzer *et al.*, 1982).

O REO resiste ao pH 3,0, peróxido de hidrogênio, formalina a 3%, e a uma ampla variação de temperatura em relação ao tempo de exposição. Mesmo quando submetido à temperatura de 60°C/5hs, apesar de haver uma redução no título, o vírus não é completamente inativado. O virion, relativamente sensível ao clorofórmio, pode ser inativado em presença de compostos fenólicos, etanol (70%) e iodo orgânico (0,5%). Embora existam estirpes víricas, de origem respiratória, que são sensíveis à ação da tripsina, com frequência, a infecciosidade do virion não é comprometida pelo tratamento com esta enzima (Joklik, 1983; Jones *et al.*, 1994).

O REO AV difere do REO MAM nas características antigênicas, especificidade de hospedeiro, replicação em cultura celular e presença de hemaglutininas. Como particularidade, somente o REO MAM tem a capacidade de hemaglutinação. Nas amostras de REO AV esta importante característica biológica não é observada (Robertson & Wilcox, 1986).

Com relação ao isolamento, o REO AV tem sido cultivado com sucesso em ovos embrionados de galinha, via saco da gema ou membrana cório-alantóide (MCA). A via saco da gema é a preferencial para o isolamento inicial do vírus, resultando em morte embrionária três a cinco dias pós-inoculação. A multiplicação do vírus na MCA resulta na formação de placas necróticas, com mortalidade embrionária sete a oito dias pós-inoculação (Rosenberger & Olson, 1995).

Em cultivo celular primário o vírus replica-se bem em fibroblasto, fígado, rim, pulmão, macrófago e testículo de embrião de galinha, porém os melhores resultados foram obtidos em hepatócitos. Para o cultivo em células de linhagem contínua podem ser utilizadas células VERO (*African Green Monkey Kidney*), BHK (*Baby Hamster Kidney*), GRFK (*Grandell Feline Kidney*), GBK (*Georgia Bovine Kidney*), RK (*Rabbit Kidney*), e PK 15 (*Porcine Kidney*). O efeito citopatogênico (ECP) determinado pelo REO AV em cultura celular é caracterizado pela formação de células multinucleadas (sincícios), que destacam-se da monocamada formando pequenos orifícios no

tapete celular. A coloração com hematoxilina e eosina (HE) revela inclusões intracitoplasmáticas basofílicas e granulares (Guneratne *et al.*, 1982).

A caracterização antigênica e/ou molecular do REO AV pode ser realizada por várias técnicas como: i) vírus-neutralização; ii) FC; iii) IDAG; iv) IF; v) ELISA; vi) mapeamento de oligonucleotídeos; vii) hibridização *in situ*; e viii) RT-PCR (White & Fenner, 1994; Liu & Giambone, 1997; Xie *et al.*, 1997).

Uma grande variação antigênica, caracterizando populações víricas heterogêneas, pode ser encontrada em estirpes de REO AV. No Japão já foram descritos cinco sorotipos de REO AV isolados a partir de *swab* retal e de traquéia, enquanto que nos Estados Unidos foram identificados quatro sorotipos isolados de amostras biológicas colhidas da cloaca, do trato respiratório e do líquido sinovial (Rosenberger & Olson, 1995). Wood & Thornton (1981), comparando estirpes de REO AV isoladas em diferentes países concluíram que existem pelo menos 11 diferentes sorotipos.

5 REOVIROSE ENTÉRICA AVIÁRIA

O REO AV tem sido associado a inúmeras patologias como a ruptura do tendão gastrocnêmico, doença respiratória, pericardite, miocardite, hidropericárdio, síndrome da má absorção, necrose de fígado, inflamação nos tendões e membrana sinovial (artrite viral/ tenosinovite infecciosa), diminuição na taxa de crescimento (refugagem), atrofia de bursa e timo, osteoporose e enterite (Rosenberger & Olson, 1995).

Como em muitas ocasiões, bactérias e outros microrganismos podem também estar envolvidos, determinando os mesmos sinais clínicos, o quadro clínico específico causado pelo REO AV pode ser impreciso. Goodwin *et al.* (1993), propõem que os casos de enterite pelo REO AV sejam diferenciados das lesões ocasionadas por partículas virais semelhantes a enterovírus, denominando as enterites ocasionadas pelo REO AV de *reovirus-associated enteritis*.

Após a infecção natural pelo REO AV a replicação viral ocorre principalmente nas mucosas dos tratos digestivo e respiratório, seguida de viremia que resulta na disseminação do vírus por praticamente todos os órgãos em 24 a 48 horas pós-infecção. Aparentemente o principal sítio de replicação do REO AV é o trato digestivo, porém o vírus é capaz de persistir por longos períodos em outros tecidos como tendões, oviduto e órgãos linfóides (Menendez *et al.*, 1975b; Ellis *et al.*, 1983).

Kerr & Olson (1964), sugeriram que a resistência à infecção pelo REO AV estaria relacionada à idade do hospedeiro. Jones & Georgiou (1984) demonstraram através de um estudo de inoculação experimental, via oral e coxim plantar, em aves SPF que as lesões macro e microscópicas diminuem em intensidade de acordo com o aumento da idade das aves. Esta susceptibilidade à infecção pode estar relacionada à deficiência das aves jovens em estabelecer uma resposta imune efetiva.

O REO AV pode ser transmitido tanto de forma horizontal quanto vertical. A excreção vírica ocorre principalmente pela via intestinal e, em menor intensidade, pela via respiratória (Menendez *et al.*, 1975a). Como o REO AV é relativamente resistente ao calor e à ação de desinfetantes, é possível que o vírus permaneça viável em incubadoras e em aviários, representando uma importante fonte de infecção para as populações subseqüentes de aves.

A frequência de identificação do REO AV varia consideravelmente de acordo com as técnicas de diagnóstico empregadas, a faixa etária dos animais e o curso da doença. O isolamento do REO AV a partir de fezes de aves clinicamente saudáveis é um fato possível e não muito raro. Isto, muito provavelmente deve-se à variação de virulência encontrada nas estirpes isoladas de casos clínicos de campo (Robertson & Wilcox, 1986).

Os plantéis avícolas comprometidos por reovirose podem apresentar alta mortalidade ou níveis normais de mortalidade e elevada morbidade. As estirpes de REO AV isoladas podem ser classificadas como sendo de baixa, intermediária e alta patogenicidade. Os parâmetros a serem avaliados para esta classificação incluem: i) sinais clínicos apresentados; ii) taxa de mortalidade; iii) redução no ganho de peso; iv) índice de conversão alimentar; v) lesões teciduais; vi) invasividade e vii) persistência vírica em aves inoculadas experimentalmente com um dia de idade.

De modo geral, as estirpes classificadas como de baixa patogenicidade não determinam mortalidade, redução de ganho de peso ou doença clínica. Os isolamentos com patogenicidade intermediária podem induzir taxas de mortalidade de até 10%, redução do ganho de peso, que pode ser demonstrada por várias semanas pós-inoculação, e lesões teciduais microscópicas, particularmente nas células intestinais. Porém, as estirpes de REO AV consideradas de alta patogenicidade podem ser responsáveis, isoladamente, por grave enfermidade caracterizada por alta taxa de mortalidade, podendo atingir até 80% das aves inoculadas. Nesta situação, observa-se também plumagem anormal, reduções nos índices de ganho de peso e conversão alimentar, desuniformidade e refugagem dos lotes. As lesões

microscópicas determinadas pelas estirpes de alta patogenicidade podem ser encontradas em vários órgãos e tecidos como intestino, fígado, pâncreas e tendão gastrocnêmico. Verifica-se também neste caso, maior persistência vírica nos tecidos e uma resposta imune mais intensa e prolongada (Rosenberger *et al.*, 1989).

Roessler & Rosenberger (1989), estudaram através de inoculação experimental a virulência de três estirpes de REO AV, em relação à idade das aves. A estirpe mais patogênica foi reisolada do timo, traquéia, fígado, intestino, tonsila cecal, bursa de Fabricius, tendão gastrocnêmico e dos leucócitos. A estirpe de média patogenicidade foi reisolada do tendão gastrocnêmico e a estirpe de baixa patogenicidade não produziu qualquer lesão, macro ou microscópica, e tão pouco foi reisolada.

Nos isolamentos de REO AV, realizados a partir de casos clínicos de campo, vários sorotipos podem ser encontrados. Hieronymus *et al.* (1983), isolaram a partir de pintos com diarreia mucóide, de coloração amarelo-alaranjada, e com síndrome de má absorção, cinco estirpes de REO AV pertencentes a três diferentes sorotipos.

Decaesstecker *et al.* (1988), na Bélgica, utilizando as técnicas de ME e cultivo celular, analisaram 102 amostras de fezes de frangos de corte. O REO AV foi detectado em 67% e 52% das amostras submetidas à ME e ao cultivo celular, respectivamente. A maior prevalência de REO AV ocorreu da primeira a quarta semanas de idade sendo que, na segunda semana a taxa de incidência foi superior. Ainda neste estudo, também foram observados RV, adenovírus e *enterovirus-like*, porém, o REO AV foi o vírus encontrado com maior frequência.

No Brasil, Alfieri *et al.* (1989b), utilizando a técnica de EGPA detectaram o ácido nucléico do REO AV em 9,26% (5/54) das amostras de fezes de frangos de corte estudadas.

Estirpes de REO AV isoladas do proventrículo e do conteúdo intestinal de frangos de corte, quando inoculadas experimentalmente em aves SPF pelas vias oral e ocular, produziram diarreia profusa, que persistiu durante todo o experimento, erosão discreta no proventrículo e hiperplasia de linfócitos (Lenz *et al.*, 1998).

Sharma *et al.* (1994), relataram que o REO AV, juntamente com o vírus da Doença de Gumboro, causam imunossupressão e lesão necrótica na bursa de Fabricius.

Em frangos de corte, também inoculados experimentalmente, verificou-se que a associação de REO AV com *Eimeria acervulina* e *Eimeria mitis* determina maior depressão das aves, intensificação das lesões intestinais e aumento na frequência dos problemas locomotores, quando comparado com a

eimeriose e com a reovirose em infecções singulares. Também foi constatado que houve necessidade de um número muito maior de oocistos esporulados, tanto de *Eimeria acervulina* quanto de *Eimeria mitis*, para reproduzir a sintomatologia clínica e determinar redução no ganho de peso. Estes resultados comprovam o efeito sinérgico do REO AV na intensificação do quadro clínico da eimeriose experimental (Ruff & Rosenberger, 1985).

A associação de REO AV com *Cryptosporidium* sp determina grave diarreia, aquosa e profusa, em codornas jovens. Em casos de campo foram observados altos índices de mortalidade em aves com idade inferior a cinco semanas. Microscopicamente as vilosidades intestinais apresentaram-se atrofiadas (Ritter *et al.*, 1986).

Nos EUA, Montgomery *et al.* (1997), desafiaram pintos de um dia de idade, utilizando como inóculo o conteúdo intestinal de frangos de corte que apresentavam queda de produtividade. A análise microbiológica demonstrou que os conteúdos intestinais continham bactérias aeróbias e anaeróbias, vírus da bronquite infecciosa (IBV) e REO AV. Entretanto, somente nas aves inoculadas com uma combinação dos três agentes (IBV/REO/bactéria) foi observada redução no ganho de peso, sugerindo que a associação de agentes etiológicos agrava o quadro clínico.

A reovirose entérica também é problema grave em outras espécies aviárias, destacando-se entre elas os perus. O REO AV tem sido rotineiramente isolado, como agente primário, a partir de amostras de fezes de plantéis de perus que apresentam enterite infecciosa, diarreia aquosa e altos índices de mortalidade (Nersessian *et al.*, 1985).

Em função da grande estabilidade da partícula viral frente a variações de temperatura, o REO AV é um vírus de difícil eliminação das instalações. Há ainda a possibilidade da transmissão horizontal e/ou vertical que contribui com a disseminação do vírus nos plantéis aviários. A utilização de técnicas de diagnóstico adequadas, que possibilitam a identificação do agente, bem como a implantação de manejo zootécnico-sanitário correto, que inclua limpeza e desinfecção rigorosas das instalações, também contribui significativamente com o controle da reovirose entérica aviária.

6 PICOBIRNAVÍRUS (PBV)

Vírus com genoma constituído de dois segmentos de RNA fd têm sido descritos em animais, plantas e fungos. Os vírus RNA fd bissegmentados que infectam vertebrados são classificados na família *Birnaviridae* e os membros mais importantes para a Medicina

Veterinária são aqueles que causam a Doença Infecciosa da Bursa (Doença de Gumboro) nas aves e a Pancreatite Necrótica dos peixes (Brown, 1986). O virion, não envelopado, apresenta diâmetro médio de 60 a 65 nm, com coeficiente de sedimentação em cloreto de cézio de 1,32 a 1,35 g/cm³, e genoma composto por duas moléculas de RNA fd com tamanho estimado de 3,3 - 3,8 Kbp e 3,6 - 3,9 Kbp para o pequeno e grande segmento genômico, respectivamente (Ozel & Gelderblom, 1985).

Um vírus com estrutura genômica similar à da família *Birnaviridae* tem sido identificado como uma possível causa de diarreia em humanos e em várias espécies animais, para qual o nome Picobirnavírus (PBV) - pico (pequeno), birna (RNA bissegmentado) foi proposto. O PBV apresenta diâmetro variando de 10 a 40 nm, simetria icosaédrica com triangulação (T) em número de três e densidade em cloreto de cézio de 1,4 g/cm³. O genoma é constituído por dois (2,6 a 1,9 Kbp) ou três (2,9; 2,4; 0,9 Kbp) segmentos de RNA fd (White & Fenner, 1994).

A primeira descrição do PBV foi realizada por Pereira *et al.* (1988b) no Brasil. Através da análise por EGPA do conteúdo intestinal de ratos de vida livre (*Oryzomys nigripes*), foi detectada a presença de duas bandas, bem definidas, de ácido nucléico que podiam ser coradas por brometo de etídio ou por nitrato de prata. As moléculas formadoras destas bandas foram susceptíveis à digestão com pancreatina, RNase A, porém, não por RNase T1 ou por DNase I. Seu tamanho foi estimado em cerca de 2,6 a 1,5 Kbp para o segmento de maior e de menor massa molecular, respectivamente. O coeficiente de sedimentação em cloreto de cézio apresentou densidade de 1,39 a 1,40g/cm³ e o diâmetro da partícula foi estimado em aproximadamente 35 nm.

A infecção de frangos de corte pelo PBV foi descrita pela primeira vez por Alfieri *et al.* (1988) que através da técnica de EGPA, realizada em 120 extratos fecais de aves com idade entre a primeira e oitava semanas, encontraram o PBV em 17 (14,17%) amostras provenientes de aves entre 25 e 35 dias de idade. Posteriormente Alfieri (1992) descreveu a identificação desse vírus em frangos de corte de outras faixas etárias e também em galinhas poedeiras.

Leite *et al.* (1990), também empregando a técnica de EGPA, analisaram 257 amostras de fezes de frangos de corte colhidas em abatedouro e encontraram o PBV em 44 (17,1%) amostras.

Barbosa *et al.* (1992), analisando por EGPA amostras de fezes de pintos de corte de quatro a nove dias, encontraram em uma amostra a presença de três bandas de RNA, que à ME revelou ser uma partícula de 35 nm de diâmetro com propriedades idênticas ao PBV.

A análise por EGPA do conteúdo intestinal de

cobaios (Pereira, 1989), suínos (Gatti *et al.*, 1989; Alfieri *et al.*, 1994), bovinos (Vanopdenbosch & Wellemans, 1989), eqüinos (Browning *et al.*, 1991), leporinos (Gallimore *et al.*, 1993) caninos (Alfieri, dados não publicados) e inclusive de humanos (Pereira *et al.*, 1988a) também tem revelado a presença, em forma isolada ou em infecção mista com outro microrganismo, de vírus com características, morfológica e genômica, semelhantes ao PBV.

Em resumo, tanto em humanos quanto em animais, incluindo as espécies aviárias, a identificação

do PBV tem ocorrido em fezes com características diarréicas e de aspecto normal, podendo ou não estar associado a outros enteropatógenos. Com isto, a real importância das infecções pelo PBV nos quadros clínicos de diarreia, somente poderá ser estabelecida através da realização de estudos epidemiológicos abrangentes. Sua possível participação como agente primário de infecções entéricas, ou o seu significado patogênico em associação com outros enteropatógenos já descritos, deverão ser melhor avaliados tanto através de infecções naturais quanto experimentais.

ALFIERI, A.F.; TAMEHIRO, C.Y.; ALFIERI, A.A.. Enteric virus with segmented double-stranded RNA genome in broiler chicken: Rotavirus, Reovirus and Picobirnavirus. *Semina: Ci. Agrárias*, Londrina, v. 21, n. 1, p. 101-113, mar. 2000.

ABSTRACT: Enteric infections account for considerable economic losses to the poultry industry through weight loss, low food conversion, direct and indirect expenses with treatments and increased death rates. Poultry intestinal pathologies, either with local or general manifestations, can be caused by bacteria, protozoa or virus, acting alone or in association. Regarding viral etiology, several genera have been isolated from poultry with enteric disease. However, two genera from the Reoviridae family, the rotavirus and the reovirus are found more frequently in broiler chicken and/or laying hen feces. These virus have been associated with clinical signs of enteritis in most epidemiological research. This revision aims to present some topics on the etiological agents (rotavirus, reovirus and picobirnavirus), the clinical disease and the diagnostic and control methods and prophylaxis of the infection.

KEY WORDS: Broiler chicken, diarrhea, rotavirus, reovirus, picobirnavirus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFIERI, A.F. *Rotavírus e outros vírus de genoma RNA fita dupla segmentado em fezes de aves*. Belo Horizonte, 1992. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
- ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A.; RESENDE, J.S.; RESENDE, M. A new bisegmented double stranded RNA virus in avian feces. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.40, p.437-440, 1988.
- ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A.; RESENDE, J.S.; RESENDE, M. Atypical rotavirus infections among broiler chickens in Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.41, p.81-82, 1989a.
- ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A.; RESENDE, M.; RESENDE, J.S. Detection and propagation of avian enteric reovirus in chicken. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.41, p.493-501, 1989b.
- ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F.; FREITAS, J.C.; SILVA, C.A.; FREIRE, R.L.; BARROS, A.R.; BARREIROS, M.A.B.; MÜLLER, E.E. Ocorrência de *Escherichia coli*, rotavírus, picobirnavírus e *Cryptosporidium parvum* em um foco de diarreia do pós-desmame em suínos. *Semina: Ci. Agr.*, v.15, p.5-7, 1994.
- ANDRAL, B.; TOQUIN, D.; L'HARIDON, R.; JESTIN, A.; METZ, M.H.; ROSE, R. Les diarrhées du dindonneau: un bilan des recherches virales effectuées (Rotavirus, Reovirus, Adenovirus, Pseudopicornavirus). *Avian Pathol.*, v.14, p.147-162, 1985.
- BARBOSA E.F.; RESENDE, M.; RESENDE, J.S.; MAGALHÃES, M.J. Viruses with tri-segmented double-stranded RNA in broiler chicken feces in Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.44, p.167-173, 1992.
- BERGELAND, M.E.; McADARAGH, J.P.; STOTZ, J.I. Rotaviral enteritis in turkey poult. In: PROCEEDINGS OF WESTERN POULTRY DISEASE, 26., CONFERENCE AND POULTRY HEALTH SYMPOSIUM, 11., 1977, Davis. *Anais... Davis: University of California*, march 21-24, 1977. p.129-130.
- BOTTINO, J.A.; HIPOLITO, O.; JULY, J.R.; PINTO A.A. Agente viral isolado de casos de artrite em frangos de corte e em galinhas de postura. *O Biológico*, v.41, p.168-169, 1975.
- BROWN, F. The classification and nomenclature of viruses: summary of results of meetings of the international committee on taxonomy of viruses in Sendai. *Intervirol.*, v.25, p.141-143, 1986.

- BROWNING, G.F.; CHALMERS, R.M.; SNODGRASS, D.R.; BATT, R.M.; HART, C.A.; ORMAROD, S.E.; LEADON, D.; STONEHAM, S.J.; ROSSDALE, P.D. The prevalence of enteric pathogens in diarrhoeic thorough bred foals in Britain and Ireland. *Equine Vet. J.*, v.23, p.405-409, 1991.
- BRÜSSOW, H.; NAKAGOMI, O.; GERNA, G.; EICHHORN, W. Isolation of an avianlike group A rotavirus from a calf with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, v.30, p.67-73, 1992.
- BURNS, J.W.; GREENBERG, H.B.; SHAW, R.D.; ESTES, M.K. Functional and topographical analyses of epitopes on the hemagglutinin (VP4) of the simian rotavirus SA11. *J. Virol.*, v.62, p.2164-2172, 1988.
- CHASEY, D.; DAVIES, P. Atypical rotaviruses in pigs and cattle. *Vet. Rec.*, v.114, p.16-17, 1984.
- DECAESSTECKER, M.; CHARLIER, G.; MEULEMANS, G. Epidemiological study of enteric viruses in broiler chickens: Comparison of tissue culture and direct electron microscopy. *Avian Pathol.*, v.17, p.477-486, 1988.
- ELLIS, M.N.; EIDSON, C.S.; FLETCHER, O.J.; KLEVEN, S.H. Viral tissue tropisms and interferon production in white leghorn infected with two avian reovirus strains. *Avian Dis.*, v.27, p.644-651, 1983.
- ESTES, M.K.; COHEN, J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol. Rev.*, v.53, p.410-449, 1989.
- ESTES, M.K.; GRAHAM, D.Y.; GERBA C.P.; SMITH, E.M. Rotavirus stability and inactivation. *J. Gen. Virol.*, v.43, p.403-409, 1979.
- FAHEY, J.E.; CRAWLEY, J.F. Studies on chronic respiratory disease of chicken. II. Isolation of a virus. *Can. J. Com. Med.*, v.18, p.13-21, 1954.
- FUKUSHO, A.; SHIMIZU, Y.; ITO, Y. Isolation of cytopathic porcine rotavirus in cell roller culture in the presence of trypsin. *Arch. Virol.*, v.69, p.49-60, 1981.
- GALLIMORE, C.; LEWIS, D.; BROWN, D. Detection and characterization of a novel bisegmented double-stranded RNA virus (picobirnavirus) from rabbit faeces. *Arch. Virol.*, v.133, p.63-73, 1993.
- GATTI, M.S.V.; PESTANA de CASTRO, A.F.; FERRAZ, M.M.G. Viruses with bisegmented double-stranded RNA in pig faeces. *Res. Vet. Sci.*, v.47, p.397-398, 1989.
- GOODWIN, M.A.; DAVIS, J.F.; McNULTY, M.S.; BROWN, J.; PLAYER, E.C. Enteritis (so-called runting stunting syndrome) in Georgia broiler chicks. *Avian Dis.*, v.37, p.451-458, 1993.
- GOUVEA, V.S.; SCHNITZER, T.J. Polymorphism of the migration of double-stranded RNA genome segments of avian reoviruses. *J. Virol.*, v.43, p.465-471, 1982.
- GUNERATNE, J.R.M.; JONES, R.C.; GEORGIU, K. Some observation on the isolation and cultivation on avian reoviruses. *Avian Pathol.*, v.11, p.453-462, 1982.
- GUSMÃO, R.H.P.; MASCARENHAS, J.D.P.; GABBAY, Y.B.; LINHARES, A.C. Nosocomial transmission of an avian-like rotavirus strain among children in Belém, Brazil. *J. Diarrhoeal Dis. Res.*, v.12, p.129-132, 1994.
- HIERONYMUS, D.R.K.; VILLEGAS, P.; KLEVEN, S.H. Identification and serological differentiation of several reovirus strains isolated from chickens with suspected malabsorption syndrome. *Avian Dis.*, v.27, p.246-254, 1983.
- HOSHINO, Y.; KAPIKIAN, A.Z. Rotaviruses antigens. In: RAMIG, R.F. (Ed.). *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, v.85, p.179-227, 1994.
- JOKLIK, W.K. *The Reoviridae*. New York: Plenum Press, 1983. p.9-11.
- JONES, R.C.; GEORGIU, K. Reovirus-induced tenosynovitis in chickens: the influence of age at infection. *Avian Pathol.*, v.13, p.441-457, 1984.
- JONES, R.C.; AL-AFALEQ, A.; SAVAGE, C.E.; ISLAM, M.R. Early pathogenesis in chicks of infection with a trypsin-sensitive avian reovirus. *Avian Pathol.*, v.23, p.683-692, 1994.
- KAPIKIAN, A.Z.; CHANOCK, R.N. Rotaviruses. In: FIELDS B.N.; KNIPE D.M.; HOWLEI, P.M. (Ed.). *Fields Virology*, 3rded. New York: Lippincott-Raven Press, 1996. v.2, p.1657-1708.
- KERR, K.M.; OLSON, N.O. Control of infectious synovitis. The effect of age of chickens on the susceptibility to three agents. *Avian Dis.*, v.8, p.256-263, 1964.
- KOOL, D.A.; HOLMES, I.H. The avian rotavirus Ty-1 Vp7 nucleotide and deduced amino acid sequences differ significantly from those of Ch-2 rotavirus. *Arch. Virol.*, v.129, p.227-234, 1993.
- LEITE, J.P.G.; MONTEIRO, S.P.; FIALHO, A.M.; PEREIRA, H.G. A novel avian virus with trisegmented double-stranded RNA and further observations on previously described similar viruses with bisegmented genome. *Virus Res.*, v.16, p.119-126, 1990.
- LENZ, S.D.; HOERR, F.J.; ELLIS, A.C.; TOIVIO K.M.A.; YU, M. Gastrointestinal pathogenicity of adenovirus and reoviruses isolated from broiler chickens in Alabama. *J. Vet. Diag. Invest.*, v.10, p.145-151, 1998.
- LIU H.J.; GIAMBRONE, J.J. In situ detection of reovirus in formalin-fixed, paraffin-embedded chicken tissues using a digoxigenin-labeled cDNA probe. *Avian Dis.*, v.41, p.447-451, 1997.
- LOURENÇO, M.H.; NICOLAS, J.C.; COHEN, J.; SCHERRER, R.; BRIOCUT, F. Study of human rotavirus genome by electrophoresis: Attempt of classification among strains isolated in France. *Ann. Inst. Pasteur Virol.*, v.139, p.449-453, 1981.
- LOZANO, L.F.; HAMMAMI, S.; CASTRO, A.E.; OSBURN, B. Comparison of electron microscopy and polyacrylamide gel electrophoresis in the diagnosis of avian reovirus and rotavirus infections. *Avian Dis.*, v.36, p.183-188, 1992.
- McNULTY, M.S. Rotavirus infections. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, H.J.; McDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. (Ed.). *Diseases of Poultry*, 10. ed. Iowa: Iowa State University Press, 1997. p.693-701.
- McNULTY, M.S.; CURRAN, W.L.; TODD, D.; McFERRAN, J.B. Detection of viruses in avian faeces by direct electron microscopy. *Avian Pathol.*, v.8, p.239-247, 1979.
- McNULTY, M.S.; ALLAN, G.M.; McCracken, R.M. Experimental infection of chickens with rotaviruses: clinical and virological findings. *Avian Pathol.*, v.12, p.45-54, 1983.

- McNULTY, M.S.; ALLAN, G.M.; TODD, D.; McFERRAN, J.B. Prevalence of antibody to conventional and atypical rotaviruses in chickens. *Vet. Rec.*, v.114, p.219, 1984a.
- McNULTY, M.S.; ALLAN, G.M.; TODD, D.; McFERRAN, J.B.; McCracken, R.M. Epidemiology of rotavirus infection in broiler chickens: recognition of four serogroups. *Arch. Virol.*, v.81, p.113-121, 1984b.
- McNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F. A survey of specific-pathogen-free chickens flocks for antibodies to chicken anemia agent, avian nephritis virus and group A rotavirus. *Avian Pathol.*, v.18, p.215-220, 1989.
- MENENDEZ, N.A.; CALNEK, B.W.; COWEN, B.S. Experimental egg transmission of avian reoviruses. *Avian Dis.*, v.19, p.104-111, 1975a.
- MENENDEZ, N.A.; CALNEK, B.W.; COWEN, B.S. Localization of avian reovirus (FDO isolant) in tissues of mature chickens. *Avian Dis.*, v.19, p.112-117, 1975b.
- MEULEMANS, G.; PEETERS, J.E.; HALEN, P. Experimental infection of broiler chickens with rotavirus. *Brit. Vet. J.*, v.141, p.69-73, 1985.
- MONTGOMERY, R.D.; BOYLE, C.R.; MASLIN, W.R.; MAGEE, D.L. Attempts to reproduce a runting/stuting-type syndrome using infectious agents isolated from affected Mississippi broilers. *Avian Dis.*, v.41, p.80-92, 1997.
- MYERS, T.J.; SCHAT, K.A. Propagation of avian rotavirus in primary chicken kidney cell and MA 104 cell cultures. *Avian Dis.*, v.33, p.578-581, 1989.
- NERSESSIAN, B.N.; GOODWIN, M.A.; KLEVEN, S.H. Studies of orthoreovirus isolated from young turkeys. I. Isolation and characterization. *Avian Dis.*, v.29, p.755-767, 1985.
- OZEL, M.; GELDERBLOM, H. Capsid symmetry of viruses of the proposed birnavirus group. *Arch. Virol.*, v.84, p.149-161, 1985.
- PEARSON, N.J.; FULTON, R.W.; ISSEL, C.J.; SPRINGER, W.T. Prevalence of rotavirus antibody in chicken and horses in Louisiana, USA. *Vet. Rec.*, v.110, p.58-59, 1982.
- PEREIRA, H.G. Birnaviridae. In: PORTERFIELD, J.S. *Andrew's Viruses of Vertebrates*. London: Baillière Tindall, 1989. p.146-155.
- PEREIRA, H.G.; FIALHO, A.M.; FLEWETT, T.H.; TEIXEIRA, J.M.; ANDRADE, Z.P. Novel viruses in human faeces. *Lancet*, v.2, p.103-104, 1988a.
- PEREIRA, H.G.; FLEWETT, T.H.; CANDEIAS, J.A.N.; BARTH, O.M. A virus with bisegmented double-stranded RNA genome in rat (*Oryzomys nigripes*) intestines. *J. Gen. Virol.*, v.69, p.2749-2754, 1988b.
- PETEK, M.; FELLUGA, B.; BORGHI, G.; BARONI, A. The Crawley agent: an avian reovirus. *Arch. Gesante Virusforsch.*, v. 21, p.413-424, 1967.
- REYNOLDS, D.L. Viral enteric infections. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YODER JR, H.W. (Ed.). *Diseases of Poultry*. 9. ed. Iowa: Iowa State University Press, 1995. p.639-645.
- REYNOLDS, D.L.; SAIF, Y.M.; THEIL, K.W. A survey of enteric viruses of turkey poults. *Avian Dis.*, v.31, p.89-98, 1987.
- RITTER, G.D.; LEY, D.H.; LEVY, M.; GUY, J.; BARNES, H.J. Intestinal cryptosporidiosis and reovirus isolation from bobwhite quail (*Colinus virginianus*) with enteritis. *Avian Dis.*, v.30, p.603-608, 1986.
- ROBERTSON, M.D.; WILCOX, G.E. Avian reovirus. *Vet. Bull.*, v.56, p.155-174, 1986.
- ROESSLER, D.E.; ROSENBERGER, J.K. In vitro and in vivo characterization of avian reoviruses. III. Host factors affecting virulence and persistence. *Avian Dis.*, v.33, p.555-565, 1989.
- ROSENBERGER, J.K.; OLSON, N.O. Reovirus infections. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YODER JR, H.W. (Ed.). *Diseases of Poultry*. 9. ed. Iowa: Iowa State University Press, 1995. p. 639-645.
- ROSENBERGER, J.K.; STERNER, F.L.; BOTTS, S.; LEE, K.P.; MARGOLIN, A. In vitro and in vivo characterization of avian reoviruses. I. Pathogenicity and antigenic relatedness of several avian reovirus isolates. *Avian Dis.*, v.33, p.535-544, 1989.
- RUFF, M.D.; ROSENBERGER, J.K. Concurrent infections with reoviruses and coccidia in broilers. *Avian Dis.*, v.29, p.465-478, 1985.
- SALLE, C.T.P.; SILVA, E.N.; SCHIMIDT, G.S.; GODOY, J.C. A cadeia produtiva da avicultura. In: CALDAS R.A.; PINHEIRO, L.E.L.; MEDEIROS, J.X. et al. (Ed.). *Agronegócio Brasileiro; Ciência, Tecnologia e Competitividade*. Brasília: CNPq, 1998. p.225-237.
- SATO, K.; INABA, Y.; SHINOZAKI, T.; FUJII, R.; MATUMOTO, M. Isolation of human rotavirus in cell culture: Brief report. *Arch. Virol.*, v.69, p.155-160, 1981.
- SCHNITZER, T.J.; RAMOS, T.; GOUVEA, V. Avian reovirus polypeptides: Analysis of intracellular virus specified products, virions, top component and cores. *J. Virol.*, v.43, p.1006-1014, 1982.
- SHARMA, J.M.; KARAKA, K.; PERTILE, T. Virus-induced immunosuppression in chickens. *Poult. Sci.*, v.73, p.1082-1086, 1994.
- SHAWKY, S.A.; SAIF, Y.M.; SWAYNE, D.E. Role of circulating maternal anti-rotavirus IgG in protection of intestinal mucosal surface in turkey poults. *Avian Dis.*, v.37, p.1041-1050, 1993.
- TAN, J.A.; SCHNAGL, R.D. Inactivation of a rotavirus by disinfectants. *Med. J. Austral.*, v.1, p.19-23, 1981.
- TAN, S.W.; YAP, K.L.; LEE, H.L. Mechanical transport of rotavirus by the legs and wings of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J. Med. Entomol.*, v.34, p.527-531, 1997.
- THEIL, K.W.; REYNOLDS, D.L.; SAIF, Y.M. Comparison of immune electron microscopy and genome electrophoretotyping techniques for detection of turkey rotaviruses and rotavirus-like viruses in intestinal contents. *J. Clin. Microbiol.*, v.23, p.695-699, 1986.
- THEIL, K.W.; SAIF, Y.M. Age-related infections with rotavirus, rotavirus-like virus, and atypical rotavirus in turkey flocks. *J. Clin. Microbiol.*, v.25, p.333-337, 1987.
- TODD, D.; McNULTY, M.S. Electrophoretic variation of avian rotavirus RNA in polyacrylamide gels. *Avian Pathol.*, v.15, p.149-159, 1986.
- TODD, D.; McNULTY, M.S.; ALLAN G.M. Polyacrylamide gel

-
- electrophoresis of avian rotavirus RNA. *Arc. Virol.*, v.63, p.87-97, 1980.
- VANOPDENBOSCHE.; WELLEMANS, G. Birna-type virus in diarrhoeic calf faeces. *Vet. Rec.*, v.125, p.610, 1989.
- WHITE, D.O.; FENNER, F.J. Reoviridae. *In: Medical Virology*, 4. ed. San Diego: Academic Press, 1994. p.522-530.
- WOOD, G.W.; THORHTON, D.H. Experimental infection of broiler chickens with an avian reovirus. *J. Comp. Pathol.*, v.90, p.69-76, 1981.
- WU, W.Y.; SHIEN, J.H.; LEE, L.H.; SHIEH, H.K. Analysis of the double-stranded RNA genome segments among avian reovirus field isolates. *J. Virol. Methods*, v.48, p.119-122, 1994.
- XIE, Z.; AMIN, A.F.; GIRSHICK, T.; KHAN, M. Amplification of avian reovirus RNA using the reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Avian Dis.*, v.41, p.654-660, 1997.
- XU, L.; HARBOUR, D.; McCRAE, M.A. The application of polymerase chain reaction to the detection of rotaviruses in faeces. *J. Virol. Methods*, v.27, p.29-38, 1990.
- YASON, C.V.; SCHAT, K.A. Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chicken and turkeys: Clinical signs and virology. *Am. J. Vet. Res.*, v.48, p.977-983, 1987.