

Ae

Doenças virais mais relevantes das aves exóticas

Nos últimos anos, tem-se assistido em Portugal a um interesse crescente pela criação e comércio de aves exóticas e ornamentais. O incremento desta atividade reflete-se nos pedidos de diagnóstico que chegam ao Laboratório Nacional de Referência (LNR) para as Doenças dos Animais, localizado no Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV). Entre as doenças que afetam estas aves destacam-se, pela sua relevância e prevalência, as infeções virais por bornavírus, circovírus e poliomavírus. O diagnóstico atempado destas infeções, que podem apresentar quadros clínicos muito variáveis, desde a forma subclínica à hiperaguda, é fundamental para o tratamento, controlo e erradicação destes vírus.

Teresa Fagulha, Margarida D. Duarte, Fernanda Ramos, Sílvia C. Barros, Tiago Luís, Carina Carvalho, Fábio Abade dos Santos, Isabel Almeida, Paula Mendonça, Paulo de Carvalho, Madalena Monteiro, Ana M. Henriques
Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.)

Neste artigo revemos os aspetos mais relevantes das doenças associadas a bornavírus, circovírus e poliomavírus, com enfoque nas particularidades biológicas destes vírus, nas doenças que causam e nos métodos de diagnóstico mais utilizados para a sua deteção. São apresentadas as percentagens de positividade nas amostras de aves testadas entre 2015 e 2020, que para maior facilidade, foram agrupadas em três famílias taxonómicas: 1) *Cacatuidae*, que inclui cacatuas e caturras (Figura 1A); 2) *Psittacidae* que inclui papagaios e periquitos (Figura 1B); 3) *Psittaculidae*, uma superfamília de aves que contém alexandrinos e lóris (Figura 1C). As três famílias pertencem à ordem dos Psittaciformes.



Figura 1: Exemplos de cada uma das famílias de Psittaciformes testadas no INIAV entre 2015 e 2020. A - *Cacatuidae* (Fonte: <https://br.depositphotos.com/stock-photos/cacatua.html>); B - *Psittacidae* (Fonte: <https://www.flickrriver.com/photos/24201429@N04/tags/psittacidae/>); C - *Psittaculidae* (Fonte: <https://pixers.hk/stickers/red-fronted-kakariki-parakeet-cinnamon-motley-colored-35103856>).

1. BORNAVÍRUS AVIÁRIO (ABV)

1.1 Características dos *Orthobornavirus*

O bornavírus aviário (ABV, do inglês *avian bornavirus*) foi identificado em 2008 como o agente responsável pela doença da dilatação do proventrículo (PDD, do inglês *proventricular dilatation disease*), uma doença devastadora, descrita pela primeira vez no final da década de 70 do séc. XX¹. O vírus pertence à ordem *Mononegavirales*², família *Bornaviridae*, e ao género *Orthobornavirus*, e encontra-se disseminado à escala mundial. Este género inclui outros vírus, porventura mais conhecidos pelo seu potencial zoonótico, entre os quais o vírus da “doença de Borna” (BoDV), também conhecida por “doença do cavalo triste”.

Os hospedeiros naturais mais relevantes do bornavírus aviário são os psitacédeos, tendo sido detetado em mais de 50 espécies, embora outras aves sejam suscetíveis à infeção³. O comércio internacional ilegal de aves exóticas favorece a disseminação do vírus, constituindo um fator acrescido de preocupação para a saúde aviária. O bornavírus aviário é um vírus com cerca de 80-100 nm de diâmetro, que apresenta invólucro de natureza glicolipídica gerado durante a gemulação de viriões através da membrana citoplasmática da célula infetada. O vírus contém um genoma de RNA, não segmentado, de cadeia simples e polaridade negativa, com cerca de 8900 nucleótidos (4). O genoma codifica pelo menos seis proteínas virais: a nucleoproteína (N), a fosfoproteína (P), uma pequena proteína (X) sobreposta com a proteína P, a proteína da matriz (M), a proteína do envelope (G) e a enzima RNA polimerase dependente de RNA (L).

Outras proteínas adicionais são geradas por mecanismos de *splicing* durante a replicação⁵, um mecanismo que “edita” as moléculas de RNA, cortando-as e colando-as em pontos alternativos. Atualmente são consideradas oito espécies de bornavírus dentro do género *Orthobornavirus*, duas delas incluindo variantes de vírus que afetam psitaciformes (ICTV 2020). A espécie de vírus *Psittaciform 1* inclui os genótipos PaBV-1, PaBV-2, PaBV-3, PaBV-4 e PaBV-7, enquanto os genótipos PaBV-5 e PaBV-6 se encontram incluídos na espécie de vírus *Psittaciform 2*. Os genótipos mais frequentes são o PaBV-4 e o PaBV-2 com, respetivamente, 157 e 129 variantes reportadas na base de dados GenBank.

1.2 Doença da dilatação do proventrículo

A doença da dilatação do proventrículo caracteriza-se por sinais neurológicos, gastrointestinais, ou uma combinação dos dois, e está associada a uma elevada taxa de letalidade, após o aparecimento dos sinais clínicos⁶. Os sinais neurológicos mais frequentes incluem depressão, convulsões, ataxia, cegueira e descoordenação, enquanto a regurgitação, falta de apetite e a presença de sementes não digeridas nas fezes fazem parte do quadro clínico gastrointestinal⁷. Os sinais clínicos e lesionais da doença da dilatação do proventrículo incluem má condição corporal, dilatação proventricular e ventricular e distensão duodenal⁸.

Uma vez que o bornavírus aviário foi detetado em aves aparentemente saudáveis, pensa-se que fatores adjuvantes adicionais estejam implicados na manifestação clínica da doença⁹. Até ao momento não existe tratamento disponível para esta enfermidade.

2. CIRCOVÍRUS DAS AVES (BFDV)

2.1 Características do vírus da doença do Bico e das Penas (*Beak and Feather Disease Virus*)

O circovírus das aves é o agente causal de uma doença associada a distrofia das penas e deformidade do bico em psitacídeos, denominada “doença do bico e das penas dos psitacídeos” (Pbfd, do inglês *Psittacine Beak and Feather Disease*). Por essa razão, o circovírus é também conhecido como vírus da doença do bico e das penas (BFDV)¹⁰. O vírus pertence ao gênero *Circovirus* da família *Circoviridae* (ICTV 2020) e foi descrito pela primeira vez em cacatuas australianas em 1975¹¹. Desde então, o vírus tem sido detetado em todo o mundo em mais de 60 espécies de aves¹². Os circovírus são vírus sem envólucro (denominados “nus”), esféricos e com morfologia icosaédrica e estão entre os vírus mais pequenos conhecidos, com apenas 15-26 nm de diâmetro¹³. O seu genoma, com aproximadamente 2000 nucleótidos, é monomérico e não segmentado, e consiste numa molécula de DNA de cadeia simples, circular e de duplo sentido, composto por uma região intergênica flanqueada por dois genes em sentidos opostos¹⁴. O gene *rep* ocorre na cadeia viral e codifica a proteína replicase, a proteína Rep, enquanto o gene *cap* ocorre na cadeia complementar da forma replicativa de dupla cadeia e codifica a principal proteína estrutural da cápside, a proteína Cap.

2.2 Doença do bico e das penas

As manifestações clínicas da doença do bico e das penas variam, podendo observar-se sinais não específicos, como letargia e baixo desempenho, ou graves anormalidades crônicas nas penas, bico e garras, características da doença (Figura 2). Ocorre frequentemente uma depleção linfóide (redução dos tecidos que contêm as células responsáveis pela resposta imunológica), associada a uma imunossupressão que favorece o aparecimento de infeções secundárias oportunistas^{15, 16}. Muitas vezes, estas infeções secundárias são responsáveis pela morte do animal.

3. POLIOMAVÍRUS AVIÁRIO (APYV)

3.1 Características do poliomavírus das aves de tipo 1 (*Aves polyomavirus 1*)

O poliomavírus das aves de tipo 1 (APyV) foi descrito pela primeira vez em 1981, como o agente etiológico de uma doença devastadora de periquitos (*budgerigar*) jovens, denominada mais tarde de “*budgerigar fledling disease*” (BFD)¹⁷. Este poliomavírus está disseminado por todo o mundo, afetando grande número de aves



Figura 2: Deficiente emplumação em periquito juvenil com infecção por *circovirus*.

da ordem dos Psittaciformes como por exemplo, papagaios, periquitos, araras e roselas¹⁷. É um vírus muito resistente, que sobrevive no ambiente exterior durante longos períodos de tempo, o que dificulta muito o seu controlo e eliminação nas coleções de aves. O APyV pertence ao gênero *Gammapolyomavirus* da família *Polyomaviridae* (ICTV 2020). A este gênero pertencem também poliomavírus que infetam outras espécies aviárias, como o canário, o corvo e o ganso. Os poliomavírus são vírus sem envólucro, icosaédricos, com cerca de 45 a 50 nm de diâmetro, que contêm um genoma circular de DNA em cadeia dupla bidirecional de aproximadamente 5000 nucleótidos¹⁹. Funcionalmente, o genoma do poliomavírus pode ser dividido em regiões codificantes precoces e tardias. A região precoce, localizada na cadeia complementar, codifica os antigénios tumorais não estruturais, enquanto a região tardia codifica as proteínas estruturais VP1, VP2 e VP3²⁰, e VP4, a proteína menor da cápside, provavelmente envolvida na montagem do virião²¹.

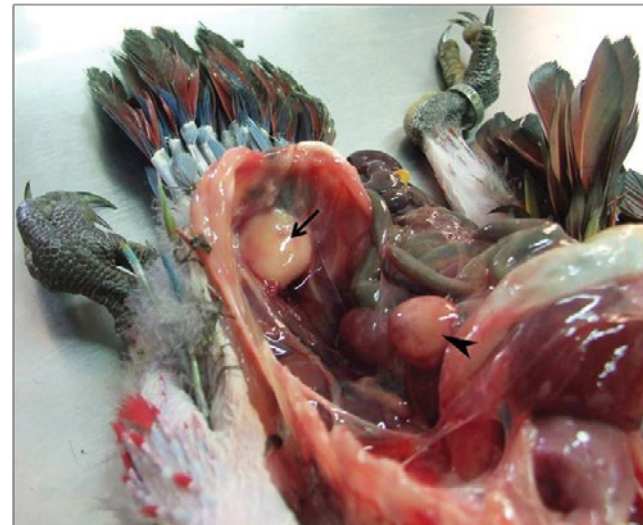


Figura 3: Análise anatomopatológica de um psitacídeo revelando baço dilatado e pálido (cabeça de seta) e bolsa de Fabricius com edema (seta).

3.2 Doença do periquito jovem (BFD)

O APyV é o agente causal de uma doença inflamatória de evolução aguda, responsável por elevada taxa de mortalidade em aves jovens. A transmissão da BFD acontece por contacto das aves suscetíveis com fezes, saliva e descamação das penas produzidas por aves doentes ou por aves que recuperaram da infeção e se tornaram portadoras assintomáticas. Alguns destes portadores continuam a excretar o vírus intermitentemente durante meses¹⁸. O quadro clínico e a gravidade da doença provocada pelo APyV variam com a espécie de ave afetada e também com a idade dos animais. Nos periquitos jovens, com idade inferior a 21 dias, a doença tem geralmente um curso rápido e fatal. Todos os psitaciformes são suscetíveis à infeção, podendo ou não desenvolver doença²².

Os sinais clínicos mais frequentes são o emagrecimento, a descoloração da pele, a presença de penas não desenvolvidas e a distensão do abdómen provocada pela acumulação de líquido (ascite). Algumas aves podem apresentar tremores na cabeça, quando o cerebelo é afetado pelo vírus.

O exame microscópico dos tecidos revela a presença de inclusões virais nas células do fígado, baço, rins, coração, cérebro, pele e folículos das penas¹⁸. O baço pode apresentar-se dilatado e a bolsa de Fabricius edemaciada (Figura 3).

4. DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO NO LNR DO INIAV

O diagnóstico laboratorial das três doenças acima descritas é efetuado para confirmação de suspeita clínica, ou quando há movimentação de aves exóticas e ornamentais (Figura 4).

O material a colher deverá ser adequado à suspeita em causa. No caso do borna-

ANIMAIS EXÓTICOS

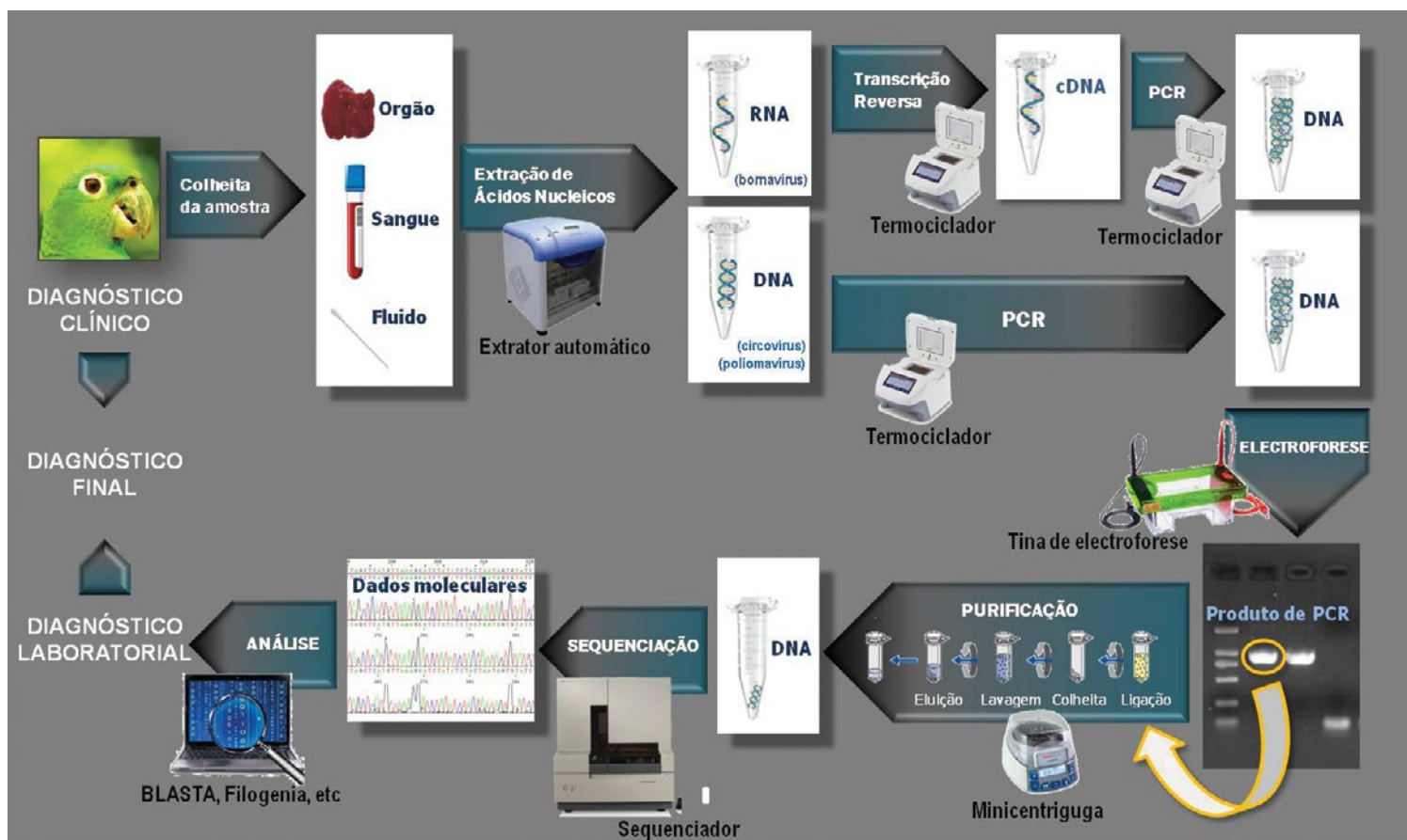


Figura 4: Diagnóstico laboratorial de bornavírus, circovírus e poliomavírus.

Vírus	Família	2015			2016			2017			2018			2019			2020			TOTAL (2015-2020)		
		A	P	%	A	P	%	A	P	%	A	P	%	A	P	%	A	P	%	A	P	%
Bornavírus	<i>Cacatuidae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1	25	3	1	33,3	16	1	6,25	23	3	13,0
	<i>Psittacidae</i>	3	0	0	2	1	50	4	2	50	14	3	21,4	21	6	28,6	87	8	9,19	131	20	15,3
	<i>Psittaculidae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	100	13	2	15,4	1	0	0	15	3	20,0
	TOTAL	3	0	0	2	1	50	4	2	50	19	5	26,3	37	9	24,3	104	9	8,65	169	26	15,4
Circovírus	<i>Cacatuidae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	2	0	0	5	0	0
	<i>Psittacidae</i>	2	0	0	15	6	40	20	2	10	91	13	14,3	136	32	23,5	93	6	6,45	357	59	16,5
	<i>Psittaculidae</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	100	22	10	45,5	58	13	22,4	82	24	29,3
	TOTAL	2	0	0	16	6	37,5	20	2	10	94	14	14,9	159	42	26,4	153	19	12,42	444	83	18,7
Circovírus	<i>Cacatuidae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	4	0	0
	<i>Psittacidae</i>	1	1	100	16	1	6,25	1	0	0	8	3	37,5	31	3	9,68	23	2	8,69	80	10	12,5
	<i>Psittaculidae</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	10	1	10	1	0	0	12	1	8,33
	TOTAL	1	1	100	17	1	5,9	1	0	0	10	3	30	41	4	9,76	26	2	7,69	96	11	11,5

As amostras foram divididas de acordo com os diagnósticos efetuados por ano e as famílias das aves respetivas, compreendendo um total de 9x6=54 grupos. A-Número de amostras testadas; P-Número de amostras positivas %-Porcentagem de positividade. Os grupos com 10 a 29 amostras estão assinalados a cinzento carregado, e os grupos com mais de 30 amostras, a preto carregado.

Tabela 1: Número de amostras testadas e número de amostras positivas, por família de aves, entre 2015 e 2020.

vírus, as matrizes a colher são fezes, ou zaragatoas cloacais quando em vida, e cérebro, proventrículo, intestino, rim, baço e pâncreas quando ocorre a morte dos animais. A pesquisa de circovírus e poliomavírus em aves vivas pode ser efetuada a partir de sangue com anticoagulante ou dos folículos das penas, e nos cadáveres poderá ser colhido fígado ou baço. Uma vez colhido o material, este deve ser mantido refrigerado por um período máximo de 72 horas, ou congelado (mais de 72 horas) e enviado para o laboratório devidamente acondicionado, rotulado e sem-

pre acompanhado da folha de requisição (acessível no site do INIAV), onde deve constar a respetiva história clínica. No laboratório de virologia do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (LNR de Portugal), procede-se à preparação da amostra para a extração de ácidos nucleicos, RNA no caso do bornavírus, e DNA no caso do circovírus e do poliomavírus. O diagnóstico virológico destes agentes é efetuado por pesquisa de ácido nucleico através da reação de polimerização em cadeia (PCR, do inglês Polymerase Chain Reaction) que permi-

te amplificar o material genético viral, gerando um número de cópias detetável. Para a pesquisa de circovírus e poliomavírus, esta amplificação é efetuada diretamente a partir do material genético extraído (PCR), enquanto no caso do bornavírus, por ser um vírus de RNA, é necessário realizar previamente a transcrição reversa do RNA viral em cDNA complementar (RT-PCR). Após a reação de amplificação, procede-se à análise dos fragmentos obtidos por eletroforese em gel de agarose, um processo que permite saber se o fragmento gerado no PCR tem

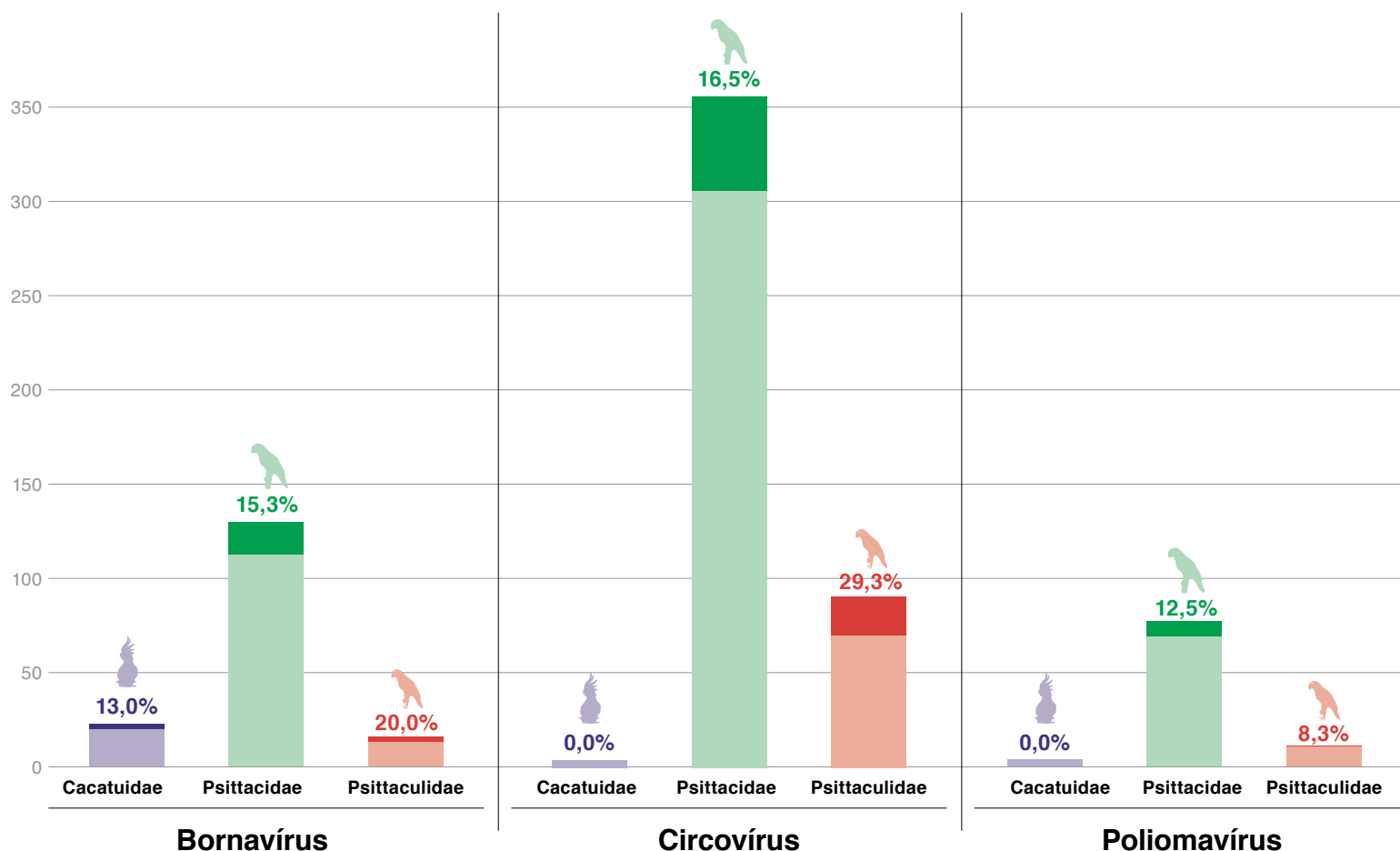


Figura 5: Número de aves amostradas (cor clara) entre 2015 e 2020, e número de aves positivas (cor escura), com indicação da porcentagem de positividade amostral.

a dimensão esperada. Em caso de dúvida, os fragmentos obtidos são excisados e purificados por metodologia apropriada, sendo posteriormente sequenciados pelo método de Sanger. A informação obtida pode confirmar ou excluir a suspeita clínica, ou em caso de movimentação de aves atestar o seu estado sanitário.

5. PREVALÊNCIA DE BORNAVÍRUS, CIRCOVÍRUS E POLIOMAVÍRUS NAS AMOSTRAS TESTADAS NO LNR DO INIAV

Nos últimos anos tem-se verificado um aumento dos pedidos de pesquisa de vírus em aves exóticas e ornamentais que chegam ao INIAV, com especial incidência na pesquisa de circovírus, com 444 análises efetuadas entre 2015 e 2020 (Tabela 1). É também o circovírus que apresenta uma maior prevalência de positividade na amostra, com 18,7% das aves testadas positivas. O segundo vírus mais pesquisado foi o bornavírus, com um total de 169 análises efetuadas no período considerado, a que correspondeu uma prevalência de positividade amostral de 15,4%. Quanto ao poliomavírus, registou-se 11,5% de amostras positivas num total de 96 amostras testadas entre 2015 e 2020.

Relativamente às espécies de aves rececionadas para diagnóstico (Figura 5),

as mais frequentes pertenciam à família Psittacidae tendo, no entanto, a prevalência de infeção sido superior nesta família apenas no caso do poliomavírus. No caso do bornavírus e do circovírus, a maior prevalência foi observada em aves da família Psittaculidae.

Considerando a distribuição temporal das amostras no período de testagem, verifica-se que nos últimos anos, nomeadamente em 2019 e 2020, o número de aves amostradas foi bastante superior aos anos anteriores, o que se traduziu também num maior número de deteções, principalmente de circovírus. No primeiro semestre de 2021, foram testadas 167 aves para circovírus, das quais 68 foram positivas (40,7% de positividade). Foram detetadas duas infeções mistas bornavírus/circovírus, uma em 2018 e outra em 2019, ambas em aves da família Psittaculidae.

As amostras foram divididas de acordo com os diagnósticos efetuados por ano e as famílias das aves respetivas, compreendendo um total de $9 \times 6 = 54$ grupos.

Os números apresentados e a tendência crescente de positividade amostral para os vírus estudados demonstram a importância da pesquisa destes agentes patogénicos virais, com vista ao conhecimento do estado sanitário das aves exóticas e ornamentais. A elevada prevalência de bornavírus, circovírus e poliomavírus

detetada no INIAV alerta para a necessidade de implementação de medidas profiláticas que impeçam a sua disseminação, principalmente durante novas introduções de aves. Estas medidas são de extrema importância para o controlo e erradicação destes vírus e das morbilidades associadas. [VA](#)

Referências:

- de Araujo JL et al. Plos One. 2017;12(11).
- McHugh JM, de Kloet SR. J Vet Diagn Invest. 2015;27(2):150-8.
- Hameed SS et al. Virology. 2018;515:81-91.
- Stachel P et al. J Virol. 2010;84(13):6269-75.
- Marton S et al. Arch Virol. 2015;160(11):2763-8.
- Delnatte P et al. J Vet Diagn Invest. 2014;26(2):266-71.
- Philadelpho NA et al. Vet Microbiol. 2014;174(3-4):584-90.
- Delnatte P et al. Avian Pathol. 2013;42(2):114-28.
- Encinas-Nagel N et al. Emerg Infect Dis. 2014;20(12):2103-6.
- Ritchie BW. Circoviridae. Avian Viruses: Function and Control. 1995. p. 223-52.
- Pass DA, Perry RA. Aust Vet Pract. 1985;15(2):55-60.
- Katoh H et al. J Vet Med Sci. 2010;72(5):631-4.
- Mankertz A et al. Vet Microbiol. 2004;98(2):81-8.
- Ritchie PA et al. Virology. 2003;306(1):109-15.
- Kondiah K et al. Arch Virol. 2006;151(12):2539-45.
- Stewart ME et al. Avian Pathol. 2006;35(2):86-U4.
- Johne R et al. J Virol. 2006;80(7):3523-31.
- Phalen DN. Proc Annual Meeting Assoc Avian Vet 1994.
- Ma JJ et al. Vet Microbiol. 2019;237.
- Rott O et al. Virology. 1988;165(1):74-86.
- Shen PS et al. Virology. 2011;411(1):142-52.
- Henriques AM et al. J Exot Pet Med. 2018;27(1):4-10.