

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
FACULDADE DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

**LEVANTAMENTO SOROLÓGICO E AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE
HUMORAL MEDIANTE TRÊS VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DE VACINAS
CONTRA O VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM “GALINHAS DE
CRIATÓRIOS DE FUNDO DE QUINTAL” NA REGIÃO METROPOLITANA DE
FORTALEZA**

Suiany Rodrigues Câmara

Fortaleza – Ceará
Dezembro, 2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ

Suiany Rodrigues Câmara

**LEVANTAMENTO SOROLÓGICO E AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE
HUMORAL MEDIANTE TRÊS VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DE VACINAS
CONTRA O VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM “GALINHAS DE
CRIATÓRIOS DE FUNDO DE QUINTAL” NA REGIÃO METROPOLITANA DE
FORTALEZA**

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado em Ciências Veterinárias –
Faculdade de Veterinária da
Universidade Estadual do Ceará, como
requisito parcial para obtenção do grau
de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área: Reprodução e Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. William Cardoso
Maciel

Fortaleza – Ceará

Dezembro, 2006

C1721

Câmara, Suiany Rodrigues

Levantamento sorológico e avaliação da resposta imune humoral mediante três vias de administração de vacinas contra o vírus da Doença de Newcastle em “galinhas de criatórios de fundo de quintal” da Região Metropolitana de Fortaleza / Suiany Rodrigues Câmara. – Fortaleza, 2006

113p.

Orientador: Prof. Dr. William Cardoso Maciel.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

1. Doença de Newcastle. 2. Levantamento Sorológico
3. Resposta Humoral. 4. “Galinhas de criatórios de fundo de quintal”. I. Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

CDD: 636.0832

Universidade Estadual do Ceará
Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias

Título do trabalho: Levantamento sorológico e avaliação da resposta imune humoral mediante três vias de administração de vacinas contra o vírus da Doença de Newcastle em “galinhas de criatórios fundo de quintal” na Região Metropolitana de Fortaleza.

Autor: Suiany Rodrigues Câmara
Defesa em: 14/12/2006

Conceito obtido: Satisfatório
Nota obtida: 10,0 (Dez)

Banca Examinadora

Prof. Dr. William Cardoso Maciel
Orientador

Prof. Dr. José Sérgio de Resende
Examinador – UFMG

Prof^a. Dra. Salete Lobão Torres Santiago
Examinadora - UECE

DEDICATÓRIA

*Por permitir mais esta conquista...
Pela fortaleza e consolo nos momentos de desânimo e aflições...*

Ao meu Grandioso Deus

Pelo amor incondicional...

Pela confiança depositada...

Pela influência positiva...

Pela dedicação...

Pelas esperanças...

Pelo exemplo de vida...

Pelo exemplo de caráter e trabalho...

Pela presença, mesmo na ausência...

Por me ensinarem bons valores...

Por terem sido meus patrocinadores, minha equipe executora...

... e os maiores incentivadores deste trabalho.

Aos Meus pais

João Bosco da Câmara

Maria de Fátima Rodrigues Câmara

Por acreditar sempre na conquista dos nossos sonhos...

Pelo apoio irrestrito e incentivo constante...

Pelo amor, carinho e compreensão...

Ao meu noivo

Hamilton Soares Sousa

Por depositarem em mim admiração e amor...

Pelo apoio irrestrito e incentivo em todos os momentos...

Pela amizade verdadeira...

As minhas irmãs

Eveline Rodrigues Câmara

Isabele Rodrigues Câmara

Dedico

AGRADECIMENTOS

EM ESPECIAL, aos meus pais João Bosco da Câmara e Maria de Fátima Rodrigues Câmara, os quais foram os patrocinadores deste trabalho, minha equipe executora e as pessoas através das quais obtive apoio, força e incentivo para concluí-lo. A vocês devo também a realização deste trabalho.

Ao meu Orientador, Professor Dr. William Cardoso Maciel, pela oportunidade que ele me concedeu de realizar um Mestrado, a qual sou muito grata.

À doutoranda e amiga Rosa Patrícia Ramos Salles pelo inestimável auxílio através da realização das provas sorológicas, transmissão de seus conhecimentos e disponibilidade em ajudar-me.

À doutoranda e amiga Márcia Helena Niza Ramalho Sobral pela disponibilidade, força, apoio e transmissão de seus conhecimentos demonstrados desde a minha Graduação até hoje, mesmo atualmente na sua ausência física.

A minha Co-orientadora, Professora Dra. Maria Verônica Moraes Campello, pelo empenho e dedicação demonstrados comigo e meu trabalho, por me fazer uma pessoa melhor com sua presença e pela oportunidade que tive de conhecê-la.

Ao Iranildo e Iranilson dois “anjos da guarda” que tive a oportunidade de conhecer, os quais eram meu braço e mão direita nas coletas de sangue.

Aos proprietários onde foram realizadas as coletas de sangue destinadas ao Levantamento sorológico, tornando possível a realização de uma parte deste trabalho e também pelo acolhimento e carinho com que sempre me recebiam.

Aos amigos do LABEO, em especial, Adonai Aragão de Siqueira, Emanuella Evangelista da Silva, Flávio Alves de Carvalho Sampaio, George Cândido Nogueira, Régis Siqueira de Castro Teixeira e Rosa Patrícia Ramos Salles, e pelos amigos que passaram pelo LABEO, Anelise Maria Costa Vasconcelos, Camila Albuquerque de Almeida, Elisete Mota, Laritza Ferreira de Lima, Márcia Helena Niza Ramalho Sobral e Walber Feijó de Oliveira, por me proporcionarem ótimos momentos dentro desse período que convivemos, os quais sempre estarão em minhas lembranças, fazendo-os inesquecíveis em meu coração.

Aos professores Dr. José Sérgio de Resende e Dra. Salette Lobão Torres Santiago por terem aceitado o convite de fazer parte de minha banca de defesa e pelas valiosas sugestões para a versão definitiva deste trabalho.

Ao Professor Dr. Adriano Cordeiro Gadelha, *in memoriam*, por ter composto minhas bancas desde a defesa da monografia na Graduação, pelas valiosas sugestões para a realização deste trabalho e pela sua conduta

marcada através de competência, humildade e generosidade na transmissão de seus conhecimentos.

À Professora e amiga Dra. Lúcia de Fátima Lopes dos Santos, minha orientadora da Iniciação Científica, por ter sido a pessoa que me apresentou ao mundo científico e pela estimada amizade conquistada.

Ao Prof. Dr. Cláudio Cabral Campello pela inestimável ajuda nas análises estatísticas.

Aos colegas da Pós-graduação pelos conhecimentos compartilhados e adquiridos, em especial, às amigas desde o início da Graduação Ana Karinne Paiva Vasconcelos e Janaína de Fátima Saraiva Cardoso por compartilharem comigo momentos importantes no âmbito profissional e inesquecíveis no âmbito pessoal.

Agradeço aos funcionários do PPGCV, pelas orientações e serviços sempre que precisei e por toda a ajuda prestada durante meu Mestrado.

À Universidade Estadual do Ceará - UECE representada pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV - e seu corpo docente, pela competência e conduta na transmissão de seus conhecimentos.

Agradeço à FUNCAP - Fundação Cearense de Amparo a Pesquisa - pelo apoio financeiro durante minha vida acadêmica no Mestrado, contribuindo para que eu tivesse condições de concluir essa etapa de minha vida.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Por tudo que vocês fizeram, sou muito grata.

“Tudo posso Naquele que me fortalece”
Filipenses 4,3

RESUMO

As “galinhas de criatórios de fundo de quintal” (GFQ) apresentam importância relevante no âmbito econômico e cultural para populações rurais pobres e subdesenvolvidas. Entretanto, a alta mortalidade em virtude de enfermidades representa um fator limitante a este sistema de criação. A Doença de Newcastle (DN) consiste na enfermidade viral que acarreta maior mortalidade a GFQ. Este trabalho teve por objetivo realizar um levantamento sorológico contra o vírus da Doença de Newcastle (VDN) em GFQ localizados na Região Metropolitana de Fortaleza (RMF), avaliar a resposta humoral de GFQ jovens e adultas mediante de três vias de administração de vacinas contra o VDN e estimar intervalos de revacinações. Para o levantamento sorológico, foram obtidas 440 amostras de soros no período de outubro de 2005 a março de 2006 de GFQ, não vacinadas, oriundas de 44 criatórios dos municípios de Aquiraz, Caucaia, Eusébio, Horizonte, Maracanaú e Pacatuba. Com o intuito de avaliar as três vias de administração, um total de 135 GFQ foram submetidas a três tratamentos os quais diferiram em relação à via de administração utilizada, sendo estas: via ocular, água de bebida e alimentar. Cada tratamento foi representado por 40 galinhas (20 jovens e 20 adultas) e um grupo controle de 15 galinhas não vacinadas. O programa de vacinação estabelecido constou de uma primovacinação e dois reforços vacinais utilizando a estirpe La Sota. As amostras de sangue foram coletadas aos 1, 15, 45, 105 e 140 dias. Os principais resultados obtidos no levantamento sorológico revelaram uma soroprevalência de 43,66% contra o VDN. Das amostras avaliadas, 91,66% apresentaram títulos até $\log_2 5$ com 8,34% das amostras com títulos variando entre $\log_2 6$ até $\log_2 9$. Para galinhas jovens, as vias ocular e água de bebida não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) nas respostas as vacinações avaliadas aos 15, 45 e 140 dias, diferindo, entretanto dos títulos obtidos nas galinhas vacinadas pela via alimentar ($p < 0,05$). Nas galinhas adultas, a vacinação pela via ocular apresentou resultados estatisticamente superiores à via água de bebida e alimentar na primeira resposta à vacinação aos 15 dias. Aos 45 dias, os resultados obtidos pela via água de bebida foram estatisticamente inferiores aos obtidos pela via ocular e aos 140 dias não houve diferença significativa para as três vias avaliadas ($p < 0,05$). Em conclusão, os altos índices de mortalidade de GFQ nos municípios da RMF associados à alta prevalência de anticorpos contra o VDN sugerem ser este um dos principais causadores dos surtos ocorridos e ainda, a vacinação pelas vias ocular e água de bebida nas condições realizadas constituem alternativas eficazes para vacinação de GFQ jovens e adultas, com intervalo de revacinações estimados de três meses.

ABSTRACT

Domestic backyard poultry (DBP) present excellent importance in the economic and cultural scope for poor and underdeveloped agricultural populations. However, high mortality in virtue of diseases represents a difficulty factor to this system of creation. The Newcastle Disease (ND) consists on the viral disease which causes greater economic upheavals and damages to the DBP. This work had for objective to carry through a serological survey against the Newcastle Disease Virus (NDV) in DBP located in the Metropolitan Region of Fortaleza (RMF), to evaluate the humoral response of adult and young DBP, using three different approaches of vaccine administration against the NDV and esteem intervals of booster vaccinations. For the serological survey, had been gotten 440 serologic samples in the period of October of 2005 to March of 2006 from DBP, unvaccinated, deriving of 44 places of the cities of Aquiraz, Caucaia, Eusébio, Horizon, Maracanaú and Pacatuba. With intention to evaluate the three approaches of administration, a total of 135 DBP had been submitted to the three treatments which had differed in relation to the approaches from the administration used, being those: by eye-drop, by drinking water and by feed vaccination. Each treatment was represented by 40 birds (20 young and 20 adults) and a control group of 15 unvaccinated birds. The established vaccination program consisted of a first vaccination and two booster vaccination, using La Sota strain. The samples of blood had been collected at the 1, 15, 45, 105 and 140 days. The main results gotten in the serological survey had disclosed to a seroprevalence of 43,66% against the NDV. Of the evaluated samples, 91.66% had presented headings until log₂ 5 with 8,34% samples with headings varying between log₂6 until log₂9. For young birds, the approaches by eye-drop and by drinking water had not presented significant statistical differences ($p < 0,05$) in the vaccinations responses evaluated at the 15, 45 and 140 days, differing, however of the headings gotten in the vaccinated birds in the feed vaccination ($p < 0,05$). In the adult birds, the vaccination by the eye-drop approaches presented superior statistic results than the drinking water approaches and to the feed approaches in the first response to the vaccination at the 15 days. At the 45 days, the results gotten for the drinking water approaches had inferior statistic results than those from the eye-drop approaches and to the 140 days it did not significant difference in the three evaluated approaches ($p < 0,05$). In conclusion, the high indices of mortality of DBP in the cities of the RMF associated to the high prevalence of antibodies against the NDV suggest to be this disease one of the main causers of the outbreaks occurred and, the vaccination in the eye-drop approaches and drinking water approaches constitutes an efficient alternatives for vaccination of adult and young DBP, with intervals of new vaccinations esteem in three months.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE QUADROS	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	14
1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
3. JUSTIFICATIVA	38
4. HIPÓTESE CIENTÍFICA	38
5. OBJETIVOS	39
6. MATERIAL E MÉTODOS	40
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
8. CONCLUSÕES	61
9. PERSPECTIVAS	62
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
11. ANEXOS	81
ANEXO I -	81
ANEXO II -	95
ANEXO III -	111

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1. Municípios pertencentes à RMF, estado do Ceará.	41
Fig. 2. Distribuição de títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 nas GFQ não vacinadas provenientes da RMF	48
Fig. 3. Títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 das GFQ vacinadas pelas vias ocular, água de bebida e alimentar contra o VDN	51
Fig. 4. Títulos obtidos através do IH e expressos em \log_2 das GFQ adultas vacinadas contra o VDN pelas vias ocular, água de bebida e alimentar utilizando a estirpe La Sota	54
Fig. 5. Títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 de galinhas jovens e adultas vacinadas pela via ocular contra o VDN	57
Fig. 6. Títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 de galinhas jovens e adultas vacinadas pela via água de bebida contra o VDN	57
Fig. 7. Títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 de galinhas jovens e adultas vacinadas contra o VDN pela alimentar com a estirpe La Sota	59

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Cronograma das coletas de sangue para obtenção de soro e vacinações realizadas nas GFQ jovens e adultas submetidas às três vias de administração de vacinas	44
Tabela 2. Criatórios e galinhas soropositivos contra o VDN oriundos da RMF	47
Tabela 3. Porcentagem de GFQ jovens com títulos obtidos através do IH iguais ou superiores a $\log_2 3$ vacinadas pelas vias ocular, água de bebida e alimentar contra o VDN	52
Tabela 4. Porcentagem de GFQ adultas com títulos obtidos através do IH iguais ou superiores a $\log_2 3$ vacinadas pelas vias ocular, água de bebida e alimentar contra o VDN	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Abreviatura ou Símbolo	Significado
ABA	Galinhas adultas vacinadas pela via água de bebida
ABJ	Galinhas jovens vacinadas pela via água de bebida
ALA	Galinhas adultas vacinadas pela via alimentar
ALJ	Galinhas jovens vacinadas pela via alimentar
ANOVA	Análise de variância
AMPV-1	Paramyxovirus sorotipo 1
CEDAVES	Centro de Desenvolvimento da Avicultura Familiar
DN	Doença de Newcastle
ELISA	<i>“Enzime Linked Immunosorbent Assay”</i>
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
GC	Grupo controle
GFQ	Galinhas de criatórios de fundo de quintal
GH	Glândula de Harder
GL	Glândula lacrimal
HALT	Tecido Linfóide Associado à Cabeça
IH	Inibição da Hemaglutinação
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDACO	Instituto de Desenvolvimento e Ação Comunitária
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
Log ₂	Logaritmo na base 2
NK	Células <i>“natural killer”</i>
OCA	Galinhas adultas vacinadas pela via ocular
OCJ	Galinhas jovens vacinadas pela via ocular
OIE	Organização Internacional de Epizootias
RMF	Região Metropolitana de Fortaleza
RNA	Ácido Ribonucleico

PA	Programa Estadual de Avicultura Familiar
PNSA	Plano Nacional de Sanidade Avícola
SPF	Livre de Patógenos Específicos “ <i>Specific Pathogen Free</i> ”
UHA	Unidades hemaglutinantes
VBIG	Vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas
VDN	Vírus da Doença de Newcastle “ <i>Newcastle disease virus</i> ”

1.0 INTRODUÇÃO

Aves domésticas criadas em sistema extensivo no Brasil são denominadas popularmente de caipiras ou “galinhas de criatórios de fundo de quintal” (GFQ) e apresentam importância relevante nos âmbitos econômico, social e cultural para as populações rurais subdesenvolvidas tais como a África, a Ásia e a América do Sul. Entretanto, alguns fatores são de fundamental importância pois atuam como limitantes a este sistema de criação, destacando-se a elevada mortalidade em virtude de enfermidades, a carência ou ausência total de apoio técnico especializado, grande número de predadores naturais, os roubos freqüentes e a pobreza (THEKISOE *et al.*, 2004).

A Doença de Newcastle (DN) faz parte da lista A da Organização Internacional de Epizootias – OIE e apresenta destaque no Plano Nacional de Sanidade Avícola - PNSA, caracterizando-se como uma doença transmissível que acarreta sérias conseqüências sócio-econômicas e/ou à saúde pública com destaque relevante para o comércio internacional de aves e seus subprodutos. Pesquisas realizadas em países da África, Ásia e Austrália relatam a Doença de Newcastle (DN) como a maior causa de mortalidade em GFQ. Nos países africanos estima-se que surtos anuais sejam responsáveis pela morte de 70-80% de aves não vacinadas (SPRADBROW, 1994). Neste contexto, ela representa um fator limitante à produção industrial, além de ser a patologia mais prevalente em galinhas caipiras (ALEXANDER *et al.*, 2004).

Essa enfermidade foi considerada como endêmica, no nosso meio, durante 25 anos, mas em 2003, os plantéis brasileiros de aves industriais foram declarados livres através de um levantamento oficial realizado, com o reconhecimento da OIE. Entretanto, diante do difícil acesso aos reservatórios silvestres e domésticos, o *status* internacional do Brasil está sempre sendo ameaçado, carecendo de providências adicionais, que visem preservar sua condição de área livre.

Na América do Sul, incluindo o Brasil, trabalhos relacionados à DN em aves silvestres e GFQ são escassos (OLIVEIRA Jr *et al.*, 2003). No Ceará, não obstante, nenhum trabalho foi realizado até o momento.

O conhecimento do padrão sanitário dos criatórios através de um levantamento sorológico contra o VDN em GFQ não vacinadas e a avaliação

das estratégias de vacinação, produzirá um controle mais eficiente da fonte de infecção viral, beneficiando sobremaneira as aves do setor comercial.

Neste contexto, este trabalho objetivou realizar um levantamento sorológico em GFQ não vacinadas, pertencentes a criatórios da RMF, comparar três diferentes vias de administração de vacinas, e estimar intervalos de revacinações.

Visando um maior esclarecimento da importância deste trabalho, será realizada uma revisão de literatura abordando os seguintes tópicos: O sistema de produção de “galinhas de criatórios de fundo de quintal”, etiologia, histórico da DN no Brasil e no mundo, transmissão, epidemiologia, patogenia, patologia, métodos de diagnóstico, práticas de controle e o sistema Imune.

2.0 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O sistema de produção de “galinhas de criatórios de fundo de quintal”

A produção de aves nos criatórios de explorações não tecnificadas ou simplesmente de “galinhas de criatórios de fundo de quintal” (GFQ) consiste em uma atividade agropecuária de grande relevância para regiões do mundo que estão em desenvolvimento (DOLBERG, 2001).

Este tipo de criação corresponde a principal atividade executada por pequenos produtores no mundo (THEKISOE *et al.*, 2003) e apresenta um papel de destaque nos âmbitos econômicos e culturais uma vez que, fornece fonte protéica de alto valor biológico, alimentação para festivais especiais, oferendas para cerimônias tradicionais, constituem um meio natural de controle de pragas mais eficiente mais eficiente (MINGA *et al.*, 2000), além de causarem pouco impacto ao meio ambiente e necessitarem de baixos investimentos (KITALYI, 1998).

A criação de GFQ difere amplamente das criações industriais. Os parâmetros produtivos das primeiras são baixos, muito embora sejam obtidos com custos mínimos, não possuem controle sanitário, nem suplementação alimentar e intervenções reprodutivas (KITALYI, 1998; SONAIYA, 2001), a população é geralmente pequena contendo cerca de 5 a 20 aves por propriedade (GUÈYE, 1997) com as várias faixas de idades representadas dentre elas (ALDERS & SPRADBROWN, 2001).

A maioria dos autores caracteriza esse sistema de criação deficiente quanto à alimentação, aos cuidados sanitários, à gerência, às práticas de manejo e revela serem elevadas as perdas por predadores. Algumas exceções foram encontradas em trabalhos realizados na Nigéria (MATTHEWMAN, 1977), na América Central (MALLIA, 1999), em Mali (WILSON *et al.*, 1987), no Sri Lanka (GUNARATNE *et al.*, 1993) na Índia (DOLBERG, 2001).

Um dos principais problemas do sistema extensivo de produção consiste na deficiência nutricional na qual normalmente as aves estão submetidas (HUQUE, 1999; SONAYIA, 2000). Uma alternativa viável seria uma suplementação alimentar realizada através de alimentos alternativos,

encontrados nas propriedades, adquiridos com baixo custo pelos proprietários. Trabalhos realizados por MEN e SU (1992); BECERRA & PRESTON (1992); RODRÍGUEZ & SALAZAR (1991) obtiveram resultados satisfatórios utilizando melaço de cana para aumentar os níveis energéticos da alimentação de galinhas de “fundo de quintal” e patos na Colômbia. No Ceará, GADELHA *et al.*, (2006) utilizaram farinha de mandioca para elevar os níveis energéticos da ração de frangos de crescimento lento.

Nas regiões de clima seco, esta situação torna-se especialmente crítica em virtude do aumento no teor de fibras (SONAIYA *et al.*, 1999) e da deficiência acentuada em vitaminas de alguns dos alimentos alternativos ou subprodutos que sobram nas propriedades.

Apesar dos problemas significativos detectados no nível nutricional, muitos autores consideram a sanidade como o principal problema limitante para este tipo de criação (MOBERLY *et al.*, 2004; THEKISOE *et al.*, 2004), merecendo destaque as enfermidades virais, tais como a doença de Newcastle e a Bronquite Infecciosa das Galinhas, as infecções bacterianas causadas principalmente por *Salmonella gallinarum* e/ou *Salmonella pullorum* e as doenças parasitárias (BISWAS *et al.*, 2006). As perdas por roubos e por predadores naturais também constituem fatores importantes que devem ser levados em consideração (BISWAS *et al.*, 2005).

No Brasil, a criação de GFQ é uma das atividades mais tradicionais, possuindo mais de cinco séculos de existência, com especial destaque para a Região do Semi-árido Nordestino (ARASIHO, 1989). Em virtude da pobreza e da falta de assistência à população rural dessa região, a criação dessas aves desempenha importante função social, pois as mesmas representam uma fonte de proteína de alto valor biológico, fonte de renda para a comercialização de carne e ovos, além de ser uma atividade de baixo custo de implantação e de manutenção (REGE & GIBSON, 2003).

As organizações de desenvolvimento governamental e não governamental consideram que os projetos que visam melhorar os sistemas de criação de GFQ constituem veículos para desenvolvimento rural e alívio da pobreza (DOLBERG, 2001) através da geração de renda e manutenção de uma fonte protéica (UDO, 1997). A implantação de projetos de avicultura familiar em parceria com essas organizações obtiveram resultados satisfatórios

em vários estados brasileiros, merecendo destaque o Centro de Desenvolvimento da Avicultura Familiar (CEDAVES), em Vitória da Conquista na Bahia, o Programa Estadual de Avicultura Familiar (PA) e o Instituto de Desenvolvimento e Ação Comunitária (IDACO) nos assentamentos Sol da Manhã e Eldorado localizados no Rio de Janeiro.

2.2 Etiologia

A doença de Newcastle (DN) é causada por um RNA-vírus, *Paramyxovirus* sorotipo 1 [AMPV-1] o qual, juntamente com vírus de outros oito sorotipos AMPV [AMPV-2 AMPV-9] pertencem ao gênero *Avulavirus*, sub-família *Paramyxovirinae* família *Paramyxoviridae* ordem *Mononegavirales* (LAMB *et al.*, 2000; MAYO, 2002). Contudo, apenas o tipo 1 [AMPV-1] é causador da doença de Newcastle nas aves, sendo os demais sorotipos capazes de produzir aglutinação em hemácias de aves, de cobaias e de humanos (ALEXANDER, 1991a; ALDERS & SPRADBROWN, 2001).

2.3 Histórico e situação da Doença de Newcastle no mundo

O primeiro relato reconhecendo o termo Doença de Newcastle (DN) em aves ocorreu em 1926, em Java, na Indonésia (KRANEVELD, 1926) e em Newcastle, na Inglaterra (DOYLE, 1927). Entretanto, há relatos de doença similar na Europa Central antes desta data (HALASZ, 1912). Em particular, MACPHERSON (1956) atribuiu a morte de todas as aves no oeste da Escócia em 1896 por DN. É possível, portanto, que a DN tenha ocorrido em aves antes de 1926, mas ela tornou-se conhecida a partir da ocorrência na cidade de Newcastle.

A História da DN é marcada no mínimo por três grandes panzootias, no entanto, é difícil definir precisamente como e quando a DN emergiu e determinar o período exato da sua difusão (PAULILLO & DORETTO Jr, 2002).

Segundo ALEXANDER *et al.*, (2004), a primeira panzootia do VDN no mundo ocorreu em 1926. O início da segunda panzootia para DN foi reconhecido no final da década de 60 no Oriente Médio e dentro de quatro anos alcançou todos os continentes do mundo (HANSON, 1972). A rápida

disseminação da DN durante a década de 1960 foi atribuída ao comércio de aves industriais e psitacídeos (ALEXANDER, 1997; FRANCIS, 1973). A terceira panzootia emergiu inicialmente no Oriente Médio, em 1970, onde foi relatada inicialmente como uma doença neurotrópica em pombos de competição.

A História indica que, de períodos em períodos, amostras do VDN emergem de fontes desconhecidas, por razões incertas, e que elas têm a capacidade de se difundir por todo o mundo através de aves susceptíveis. O uso profilático de vacinas em aves industriais preveniu, em muitos países, a emergência e a difusão de novas panzootias, mas existem evidências do isolamento de vírus virulento em aves exóticas e surtos da doença em GFQ em algumas partes do mundo, devido ao relaxamento nas políticas de controle (PAULILLO & DORETTO Jr, 2002).

Atualmente, é extremamente difícil avaliar a prevalência da doença de Newcastle. Em alguns países ou áreas declarados livres apenas aves de produção estão sendo consideradas não existindo controle para GFQ e silvestres. Em outros, a distribuição é extremamente complicada, especialmente quando são usadas vacinas vivas que podem ser consideradas extremamente virulentas a outros países. Mesmo em regiões que têm sido descritas como livres da DN, monitoramentos sorológicos revelam freqüentemente infecções assintomáticas com vírus avirulentos que se espalham por aves silvestres e GFQ. (ALEXANDER *et al.*, 2004).

A DN apresenta-se como doença enzoótica ou de epizootia regular em aves industriais na África, Ásia, América Central, partes da América do Sul (COPLAND, 1987; SPRADBROWN *et al.*, 1988; RWEYEMAMU *et al.*, 1991; ALDERS & SPRADBROWN, 2001) e como epizootias esporádicas no continente Europeu (KALETA & HEFFLS-REDMANN, 1992). É endêmica em populações de GFQ da África e Ásia (SPRADBROW, 1994) e em vários países do mundo (SEAL *et al.*, 1998).

Os últimos surtos mundiais em aves industriais foram notificados na Califórnia, Noruega e Suécia em 2003 e na Bélgica e Rússia em 2004 (KAPEZYNSKI & KING, 2005). Em aves silvestres foram detectados surtos em psitacídeos, faisões e pombos no ano de 2003 (GLAUCIA *et al.*, 2003), e em 2005 em faisões na França (KAPEZYNSKI & KING, 2005).

2.4 Histórico da DN no Brasil

A primeira descrição da doença de Newcastle, no Brasil, data de 1953, quando Cunha e Silva realizaram o isolamento da amostra M33 do VDN, na cidade de Macapá, associando o surto da doença à importação de carcaças de frangos congelados, provenientes dos Estados Unidos (CUNHA & SILVA, 1955). Posteriormente, foram assinalados surtos nos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais (GUIMARÃES & SILVA, 1954). A partir desta data, a doença foi observada em algumas regiões do território nacional, ocasionando graves perdas econômicas para os avicultores brasileiros (HASTENREITER, 1976; ITO, 1986).

No Brasil, as últimas notificações oficiais em aves de produção ocorreram em 2000 no estado do Rio de Janeiro e no ano de 2001 em Goiás (MENDES, 2004). Estudos sorológicos indicaram a circulação do VDN em aves silvestres e GFQ no estado do Rio de Janeiro (BELLUCCI, 1999; OLIVEIRA Jr *et al.*, 2003). Trabalhos realizados por OLIVEIRA Jr *et al.*, (2005) indicaram a presença de anticorpos seguido de isolamento viral do VDN em patos domésticos (*Neta sp*) no estado do Rio de Janeiro. Mais recentemente, houve isolamento viral do VDN de alta patogenicidade em aves migratórias no município de Galinhos no estado do Rio Grande do Norte (NOTA TÉCNICA PNSA, 2005) e em GFQ no estado do Rio Grande do Sul.

2.5 Epidemiologia

2.5.1 Hospedeiros

O VDN tem sido declarado como agente infeccioso de pássaros, répteis e mamíferos, incluindo o homem (LANCASTER, 1966). KALETA & BALDAUF (1988) relataram que o VDN é capaz de causar infecção em mais de 241 espécies de aves e aproximadamente 27 das 50 ordens existentes. É provável que todas as aves sejam susceptíveis a infecção, ainda que as espécies possam diferir nos níveis de susceptibilidade.

Vírus virulentos de VDN têm sido detectados em aves de cativeiro (SENNE *et al.*, 1983). KALETA & BALDAUF (1988) afirmaram que as

importações de pássaros podem resultar em infecções enzoóticas em aves industriais e GFQ. Segundo PANIGRAHY *et al.*, (1993) as importações ilegais apresentam grande importância neste contexto.

Diversas pesquisas realizadas na África, Ásia e Austrália mencionam a DN como a principal enfermidade causadora de mortalidade em GFQ, acometendo de 70 a 80% as aves que não são vacinadas (AWAN *et al.*, 1994; SPRADBROW, 1994).

IHPÓLITO & FREITAS (1963) ressaltaram a importância da DN como zoonose, que comprometia a saúde das pessoas que trabalhavam no meio avícola tais como veterinários, galponistas e funcionários de abatedouros. Nos humanos, esta doença costuma afetar os olhos, causando conjuntivite, dor e lacrimejamento, podendo surgir ligeira febre, calafrios e faringite (PAULILLO & DORETTO Jr, 2002).

2.6 Transmissão

2.6.1 Vertical

A possível transmissão do VDN pela via vertical ainda é razão de muita divergência entre os pesquisadores porque resultados positivos e negativos têm sido encontrados. FRENCH *et al.*, (1967) relataram que embriões sobreviventes oriundos de aves infectadas eram positivos para DN. Mais recentemente, VDN virulento foi detectado em cultivos celulares preparados com ovos de galinhas infectadas (CAPUA *et al.*, 1993) e através de ovos oriundos de aves infectadas (CHEN & WANG, 2002). Entretanto, HOFSTAD (1949), citado por SEAL *et al.*, (2000) constatou que aves nascidas de ovos de galinhas infectadas com VDN apresentaram-se negativas para esta doença.

2.6.2 Horizontal

A transmissão do VDN por contato direto através de produtos contaminados, ou por aerossóis de aves infectadas, é uma das principais formas de difusão da DN (ALEXANDER, 1988). Aves apresentando

sintomatologia respiratória excretam o vírus em aerossóis que podem ser inalados por aves susceptíveis (PAULILLO & DORETTO Jr, 2002). Da mesma forma, como esse vírus se replica no intestino, pode ser difundido por fezes contaminadas, através da sua ingestão direta ou indiretamente pela inalação de pequenas partículas produzidas pelas fezes secas (ALEXANDER *et al.*, 1984).

2.7 Patogenia

Segundo MCFERRAN & MCCRAKEN (1988), nenhuma lesão microscópica é considerada patognomônica para qualquer forma de VDN. Infecções causadas por vírus virulentos normalmente causam lesões hemorrágicas no trato intestinal, podendo variar consideravelmente quanto a extensão.

Alguns autores relatam que as lesões observadas no proventrículo são mais características, enquanto outros consideram as lesões do duodeno, jejuno e íleo. Algumas aves apresentam ainda sinais neurológicos antecedentes à morte, os quais representam evidências de acometimento do sistema nervoso central. Podem ocorrer também lesões no sistema respiratório normalmente com sintomatologia clínica envolvendo este sistema, sendo observadas mucosas hemorrágicas, congestionadas e aerossaculites.

Segundo ALEXANDER *et al.*, (2004), na maioria dos tecidos e órgãos onde as modificações ocorrem, podem ser observados hiperemia, necrose, infiltração celular e edema. Alterações no sistema nervoso central são freqüentemente associadas a encefalomielite não purulenta.

2.8 Sinais clínicos e lesões

Os sinais clínicos em aves infectadas com o VDN variam largamente e são dependentes de fatores tais como: vírus, espécie hospedeira, idade, infecções intercorrentes com outros microrganismos, “stress” ambiental e perfil imunológico. Em algumas circunstâncias, infecções com vírus extremamente virulento podem resultar em súbitos, alta mortalidade e, até mesmo, poucos sinais clínicos. Ainda que os sinais clínicos não sejam considerados

patognomônicos, sinais nervosos e/ou entérica podem estar associadas a estirpes velogênicas (BEARD & HANSON, 1984).

De acordo com COLLINS & GOUCH (1988) os vírus da DN se enquadram em cinco categorias baseadas nos sinais e na virulência dos mesmos, sendo estes classificados como: DN viscerotrópica velogênica, DN neurotrópica velogênica, DN mesogênica, DN lentogênica e assintomática entérica.

Um quadro inespecífico também pode estar associado com sinais como depressão, diarréia, prostração, edema de cabeça, queda na produção de ovos caminhando para uma parada completa (MCFERRAN, 1989).

Caso a DN não seja endêmica em uma determinada área, os sinais clínicos e as lesões podem ser altamente significativos, especialmente em GFQ (ALEXANDER *et al.*, 2004) Os sinais clínicos típicos são: estado de prostração e depressão com penas eriçadas, diarréia branco-esverdeada, e nas sobreviventes, a cabeça girada para um lado conhecido como torcicolo, paralisia das patas, asas ou outros sinais neurológicos. Outras características típicas da doença incluem: rápida propagação, morte em período de 2-3 dias, mortalidade superior a 50%, e um período de incubação de 2-3 dias, ou, em ocasiões raras, de 2-15 dias (BEARD & HANSON, 1984). Na necropsia, os achados mais comuns são: muco na traquéia, hemorragias no intestino e no proventrículo.

2.9 Diagnóstico

O diagnóstico definitivo da DN é realizado através do isolamento viral e da posterior caracterização biológica da patogenicidade do novo isolado (BRASIL, 1994).

2.9.1 Sorológico

A sorologia é uma das ferramentas mais úteis para estabelecer um programa de medicina preventiva. No entanto, são necessários objetivos bem definidos e interpretação correta dos dados para que sejam obtidos os reais benefícios. Além de proporcionar o conhecimento das especificações dos

testes (sensibilidade, especificidade) e os dados históricos da população, faz-se necessário estabelecer um programa de monitoração (MUÑOZ, 2005). As provas sorológicas devem realizar-se freqüentemente, estabelecendo programas práticos e econômicos. Uma vez estabelecido o programa, podem ser realizados os ajustes e modificações tanto na freqüência das análises como nos programas de vacinação (VILLEGAS, 1990).

A avaliação rotineira da resposta sorológica ajuda a determinar parâmetros tais como: a qualidade da vacinação, a técnica de administração, as idades mais convenientes para a vacinação, a interferência na resposta devida a outras vacinas ou às práticas de manejo, a exposição aos vírus patogênicos de campo, incluindo as condições imunodepressoras que diminuem a resposta à vacinação, determinar os níveis de imunidade materna e comparar a eficácia das vacinas (ROSALES *et al.*, 1999).

As amostras de soro coletadas de um lote são usadas para determinar a presença e a quantidade de anticorpos, ou imunidade humoral, através do emprego de vários procedimentos diferentes. Esses testes estão baseados nos mesmos princípios. No laboratório, as amostras de soro são expostas a antígenos específicos onde pode ser detectada e avaliada a sua capacidade de formar complexo antígeno-anticorpo.

Estão presentes no soro diferentes tipos de anticorpos ou imunoglobulinas dependendo do estágio da resposta do sistema imunológico no momento em que o soro foi coletado. As imunoglobulinas IgM são produzidas no início da resposta e após alguns dias, são seguidas por níveis mais elevados de imunoglobulinas IgG. Alguns procedimentos sorológicos são mais eficientes na detecção de alguns tipos de imunoglobulinas (tal como a IgM) do que outros e, portanto, este fato deve ser considerado quando se faz a seleção de testes para a detecção do início de surtos (por exemplo, o teste rápido de aglutinação em placas para micoplasmas). Dias mais tarde, os resultados das respostas sorológicas iniciais podem ser confirmados através da coleta adicional de amostras de soro e o emprego de testes que detectem a IgG com eficiência (testes de inibição de hemaglutinação e ELISA).

Os testes sorológicos, além de utilizados para detectar a presença de vírus de campo, também são realizados para monitorar o *status* imunológico

do lote frente aos mais diversos programas vacinais (KING & CAVANAGH, 2001).

A sorologia é largamente recomendada e normalmente usada, mas, apesar de continuar sendo uma ferramenta precisa, por si só não permite o fechamento do diagnóstico, já que, para tal, devem ser considerados os parâmetros: clínicos, epidemiológicos e os achados de necropsia, sem os quais a interpretação da sorologia é virtualmente impossível e certamente arriscada (BORNE & COMTE, 2003).

Na ausência de vacinação, a presença de anticorpos contra a DN indica que a ave foi infectada pelo vírus em algum momento, mas não necessariamente que esteja acometida pela doença no momento em que foram detectados anticorpos. Os métodos mais utilizados para mensurar títulos de anticorpos contra o VDN são: o teste de inibição da hemaglutinação (IH) e o ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) (VILLEGAS, 1990; BORNE & COMTE, 2003; MUÑOZ, 2005).

2.9.1.2 Teste de Inibição da Hemaglutinação

A monitoração sorológica do VDN em aves através da IH é muito empregada em virtude da sensibilidade, do custo e dos reagentes em comparação com as provas de soroneutralização (SN) e ELISA (ALEXANDER, 1997). Essa prova é sensível e específica e quantifica principalmente as imunoglobulinas do tipo IgG (SANTOS & SILVA, 2000).

O IH baseia-se no fato de que a hemaglutinina presente no envelope viral pode aglutinar os eritrócitos das aves e que estas podem ser inibidas com anticorpos específicos. Para tanto, são utilizadas placas de microtitulação em “v”, amostras de soros, solução salina tamponada (pH 7,2) e de antígeno viral. A diluição da suspensão do antígeno necessária para o resultado final ou número de unidades de HA depende da determinação do número destas unidades na suspensão do antígeno. Normalmente 4 unidades hemaglutinantes são usadas, de acordo com o método descrito por ALLAN & GOUCH (1974). Na ausência de qualquer anticorpo contra o vírus, o antígeno se ligará ao eritrócito, desse modo a hemaglutinação ocorre, aparecendo como

um agregado de células difusas no poço. A presença ou ausência de aglutinação é expressa em títulos. Apenas nos poços que apresentam-se de forma semelhante ao controle (contendo apenas eritrócitos e PBS) podem ser considerados para demonstrar a inibição. Os títulos são recíprocos às maiores diluições de soros as quais inibem a hemaglutinação e normalmente são expressos em logaritmo na base 2. Amostras seqüenciais coletadas em diferentes momentos podem indicar se o título está aumentando – indicativo de uma infecção – ou declinando.

O título da suspensão de antígeno e a suspensão de eritrócitos usados para IH devem ser verificados e testados sempre antes de cada teste, para garantir que a atividade de HA esteja de acordo com o que foi calculado e preservar a qualidade do teste (MUÑOZ, 2005).

2.9.1.3 ELISA

A técnica de ELISA é utilizada para detectar ou medir o nível de anticorpos (ELISA indireto) ou antígenos (ELISA direto) (TIZARD, 1998). Possui alta especificidade e sensibilidade, bem como rápido processamento de múltiplas amostras, sendo empregada para diagnóstico de várias enfermidades de mamíferos e de aves, causadas por vírus, bactérias, micoplasmas, protozoários, micotoxinas ou mesmo para a detecção de drogas, hormônios, proteínas e outras substâncias. É uma reação sorológica que se baseia no uso de antígenos e anticorpos marcados com enzimas, na qual o complexo resultante possui atividade imunológica e enzimática. Esta técnica detecta e mensura principalmente as imunoglobulinas do tipo IgG e IgM, podendo detectar quantidades mínimas de anticorpos (SANTOS & SILVA, 2000).

Na interpretação dos resultados do teste de ELISA, se faz necessário estabelecer o conceito de títulos altos, médios e baixos. Títulos altos podem resultar como consequência da exposição das aves ao vírus de campo ou como resultado de programas de vacinação com várias vacinas ou com vacinas em veículo oleoso e concentrado (VILLEGAS & AVELLANEDA, 1992).

A técnica de ELISA utiliza reagentes padronizados e microplacas específicas, as quais são de poliestireno, apresentam 96 orifícios e são

revestidas com antígeno ou com o anticorpo imobilizado. Este revestimento é o local de ligação dos anticorpos ou antígenos da amostra. Em cada kit são fornecidos controles negativo e positivo. Estes controles ajudam a normatizar ou a padronizar cada placa. Os controles também são usados para validar o ensaio e para calcular os resultados das amostras. Os conjugados ELISA são anticorpos marcados com enzimas que reagem especificamente aos analitos da amostra ligados à placa. O conjugado não-ligado é lavado após a incubação e antes da adição do substrato. O concentrado do lavado é uma solução tamponada contendo o detergente usado para retirar o material não-ligado da placa (MUÑOZ, 2005). Um substrato (cromógeno) é acrescentado, o qual é sensível a ser hidrolizado pela enzima e a mudar de cor. A intensidade da coloração é proporcional à quantidade de anticorpos ligados. O teste é lido usando um espectrofotômetro, que fornece os valores da densidade ótica. O resultado pode ser convenientemente expresso em título ou score ELISA, pela aplicação de uma fórmula matemática que transforma as densidades óticas em “títulos”. A interpretação dos resultados requer experiência e uma boa compreensão dessa ferramenta.

2.10 O controle da Doença de Newcastle

Muito tem sido descrito sobre práticas de controle da DN em aves industriais. No entanto, comparativamente, muito pouco têm sido adotado para GFQ. Desse modo, a maioria dos autores concorda que este fator também é limitante para as criações extensivas (SONAIYA, 2000; SPRADBROW 1994). Enquanto algumas características são similares, o sistema de produção e o *status* sócio-econômico dos proprietários demonstram que o controle da DN pode ser muito complexo para as criações de GFQ (KITALYI, 1998), requerendo a adoção de medidas mais rigorosas.

Nas aves industriais, segundo ALEXANDER (1997), o controle da DN consiste na adoção de um conjunto de medidas tais como: políticas internacionais de controle regulamentadas através da OIE (2000), políticas nacionais de controle, com destaque para o PNSA, práticas de biossegurança e medidas de vacinação. Ainda que os detalhes possam variar, em geral, estes

quatro componentes podem ser aplicáveis ao controle da DN em GFQ (DESSIE, 1996).

O grande desafio consiste no desenvolvimento de programas sustentáveis nos âmbitos econômico e social (TSIBANE, 2000). Entretanto, as leis que regulam o controle em patologia aviária na maioria dos países não fazem nenhuma distinção entre a avicultura industrial e a avicultura alternativa (SONAIYA, 2001).

2.11 Considerações sobre o sistema imunológico das aves

Em geral, quatro tipos de imunidade são importantes na proteção de uma ave contra desafios ou por um agente infeccioso. Elas são: anticorpos circulantes ou humorais, imunidade produzida localmente no trato respiratório ou intestinal, imunidade mediada por células – T e a imunidade de origem materna. Altos níveis de anticorpos humorais são produzidos em resposta à infecção ou pela vacinação. Acredita-se que a imunidade mediada por células seja mais importante na proteção contra os desafios, embora somente agora comecem a estar disponíveis as técnicas que possibilitam o estudo da imunidade neste sentido. Os níveis de anticorpos maternos declinam rapidamente. Em diversos locais da cabeça da galinha, a glândula de Harder (GH), glândula lacrimal (GL) e conjuntiva têm demonstrado conter elementos linfóides. Coletivamente refere-se a estes locais como Tecido Linfóide Associado à Cabeça (HALT) e acredita-se que eles constituem um sistema imune regional. Acredita-se que, quando o HALT está comprometido, a ave como um todo está potencialmente em risco (MONTGOMERY *et al.*, 1997).

Os antígenos chegam à intimidade do organismo animal por diferentes vias, especialmente por absorção através das mucosas respiratória e digestória. Independente da porta de entrada, o antígeno é capturado por células mononucleares fagocitárias denominadas macrófagos. Este por sua vez, leva o antígeno aos órgãos linfóides, principalmente para o baço e à bolsa de Fabricius, onde o mesmo é “entregue” às células produtoras de anticorpos. Estas células produtoras de anticorpos constituem as células principais da glândula de Harder, timo, baço, tonsilas cecais e bolsa de Fabrícus (MARTINS, 1990; SANTIAGO *et al.*, 1999).

A primeira linha de defesa contra patógenos invasores é feita por mecanismos imunes inatos, como as células fagocitárias, que incluem heterófilos e macrófagos, complemento e células *natural killer* ou NK. As células NK são células linfóides não-T e não-B, que são citotóxicas para células infectadas com vírus e células tumorais. Os patógenos que não têm sua entrada impedida pelas barreiras físicas ou controlados pelos mecanismos inatos de defesa, iniciam uma resposta imune específica (GLICK, 1995). A imunidade adaptativa é altamente específica para o agente que estimula seu desenvolvimento, enquanto que a imunidade não-adaptativa ou inata é inespecífica. As células que medeiam a imunidade específica retêm uma "memória" de seu encontro com os patógenos mesmo depois deste ter sido eliminado do corpo e que a resposta imune detectável diminuiu. A imunidade adaptativa é mediada por uma série de células, das quais as mais importantes são os linfócitos T, os linfócitos B e os macrófagos (SCHAT, 2001).

As imunoglobulinas (Ig), ou anticorpos, secretados pelos linfócitos B, constituem o principal componente da imunidade humoral. As aves têm três classes principais de imunoglobulinas: IgM, IgG e IgA. A IgM é encontrada na superfície da maioria dos linfócitos B e é o primeiro anticorpo produzido depois da imunização primária. À medida que a resposta imune progride, as células produtoras de IgM passam a produzir IgG ou IgA. A IgG é o principal anticorpo produzido depois da imunização secundária e é a classe predominante de imunoglobulina no sangue, também denominada de IgY quando extraída da gema de ovos. A IgA é o anticorpo mais importante para a indução da imunidade de mucosa (IHGGINS & WARR, 2000).

2.12 A prática de vacinação no âmbito da avicultura

2.12.1 Tipos de vacinas

Em áreas epizoóticas para a DN ou que desejam a manutenção de áreas livres, a adoção de práticas de vacinação torna-se necessária para a promoção de um controle eficaz (CHEN & WANG, 2002). As principais vacinas utilizadas atualmente contra a DN constituem: as vivas mesogênicas, as vivas lentogênicas e as inativadas (ALEXANDER *et al.*, 2004).

2.12.2 Vacinas vivas

Embora o VDN tenha essencialmente um sorotipo único, há uma grande diferença na patogenicidade dos isolados e estirpes, variando daquelas que não causam visivelmente nenhum sinal àquelas que matam dentro de alguns dias. Estes foram classificados, em ordem de patogenicidade crescente, em estirpes entéricas, lentogênicas, mesogênicas e velogênicas (MEULEMANS, 1988). A maioria das vacinas vivas são derivadas das estirpes entéricas ou lentogênicas assintomáticas, embora algumas vacinas oriundas das estirpes mesogênicas estejam ainda em uso (ALDERS, 2000).

As estirpes vacinais mais utilizadas atualmente no Brasil contra o VDN, La Sota e HB1, replicam-se tanto no trato respiratório quanto digestório, induzindo a proteção local e sistêmica.

O nível da reação vacinal é um fator importante para vacinação de aves domésticas. A estirpe HB1 induz às reações vacinais suaves, tendo sido usada extensivamente para vacinação em aves domésticas (BELL *et al.*, 1990).

A estirpe La Sota é mais virulenta e geralmente induz uma maior resposta imune que a estirpe HB1 (GLISSON & KLEVEN, 1993; ALEXANDER, 1997), produz reações vacinais moderadas, especialmente em aves imunologicamente deprimidas, não sendo recomendadas para vacinações preliminares. Esta estirpe seria também indicada para vacinação de populações de idades múltiplas. Em vacinações, o grau da reação pós-vacinal da estirpe da La Sota como vacina preliminar depende do nível residual dos anticorpos que poderiam proteger as aves, da extensão de outras infecções simultâneas, tais como *Mycoplasma sp.*, *E. coli* ou doença de Gumboro

Algumas estirpes vacinais lentogênicas e assintomáticas entéricas são largamente utilizadas em países da África, Ásia e Austrália, dentre estas, merece destaque a vacina lentogênica clone 30 e as assintomáticas termoestáveis V4 e I2 (IBRAIHM *et al.*, 1992; BELL *et al.*, 1995), entretanto estas vacinas não estão sendo usadas no Brasil.

Óleos adjuvantes, normalmente usados com as vacinas inativadas, potencializam a resposta imunológica, também têm sido usado com vacinas

vivas, entretanto, esta combinação não tem sido usada em GFQ (PELEG *et al.*, 1993).

Vacinas mesogênicas foram utilizadas em vacinações de GFQ. Entretanto, estas vacinas induzem a reações severas não sendo recomendado seu uso em populações de aves não vacinadas anteriormente ou onde as mesmas não entraram em contato com o vírus de campo (SAIFUDDIN *et al.*, 1990). Segundo ALEXANDER (1997), estas vacinas devem ser utilizadas após uma vacinação preliminar com uma vacina viva lentogênica.

2.12.3 Vacinas inativadas

Em aves industriais, as vacinas inativadas são normalmente aplicadas após uma vacinação inicial ou “priming” com uma vacina viva. Nas criações comerciais, têm sido relatados bons resultados com o uso de vacinas inativadas, mesmo na ausência de imunização inicial com uma vacina viva (BELL *et al.*, 1990). Segundo BELL & MOULOUDI (1998), este fenômeno pode ser explicado em virtude de uma infecção precedente com vírus de campo.

As vacinas inativadas, em virtude dos custos e dificuldade na aplicação, não têm sido utilizadas em GFQ (VERGER, 1986).

2.12.4 As vacinações e as vias de administração de vacinas na avicultura

As vacinações podem ser realizadas de forma individual ou massal. A vacinação individual com vírus vivo é feita pelas vias ocular ou nasal onde se utiliza o vírus vacinal associado a um diluente a base de água destilada e deionizada adicionadas de corante e estabilizante e, ainda, através de injeções subcutâneas reservadas para vacinas inativadas. Já as vacinações de forma massal podem ser administradas através da via “spray”, via água de bebida ou através de alimentos, tendo esta última via apresentado grande relevância nos últimos anos para “galinhas de criatórios de fundo de quintal”.

Na avicultura industrial, a vacinação representa um custo importante para este sistema de criação, entretanto, por motivos práticos e econômicos, métodos de vacinações individuais com vírus vivo estão entrando em desuso (SEAL *et al.*, 2000). A administração de vacinas para GFQ não é comparável,

em número de aves e custos com equipes de vacinação por aplicação, às aves do setor comercial. No entanto, no que diz respeito ao custo do produto utilizado (vacina), os proprietários de GFQ ,proporcionalmente, têm de um maior custo financeiro (ALEXANDER *et al.*, 2004).

Vacinações pela via ocular estimulam a glândula de Harder (GH) que tem localização adjacente ao globo ocular e é rica em células que respondem às vacinações produzindo IgA que protege as aves contra infecções respiratórias. A via nasal, a exemplo do que ocorre na via ocular, induz a produção local de IgA nas secreções, dando uma rápida proteção, pois a multiplicação do vírus no nível das células receptoras das vias respiratórias ocorre antes da solicitação de células imunocompetentes do animal (LYRA *et al.*, 1979; SHARMA, 2003). Esta resposta local se processa por uma conjugação covalente de IgA sintetizado pelas células do plasma estabilizado com o componente secretório das células epiteliais. Além de IgA, também foi detectado IgG na saliva de aves seis semanas após a vacinação por via nasal com estirpe La Sota, bem como IgM, IgA e IgG no soro e lágrima de aves vacinadas com estirpe HB1 por via ocular (RUSSEL & EZEIFEKA, 1995). Segundo SCHAT (2001) aves vacinadas pela vias ocular e nasal induzem a uma proteção mais eficaz, uma vez que promovem um maior estímulo de imunoglobulinas locais IgA, e estas, em associação as Imunoglobulinas IgM e IgG, conseguem assegurar uma proteção global contra infecções e, como consequência, essas aves tornam-se mais resistentes frente aos desafios (TANAKA & KIDA, 1995).

A correta diluição da vacina e a calibração dos aplicadores pelos pequenos proprietários constituem pontos críticos para resultar em uma boa resposta vacinal em GFQ (ALDERS & SPRADBROWN, 2001).

A maioria dos autores sugerem intervalos de revacinações superiores para aves vacinadas pela via ocular em detrimento àquelas empregando vacinas pelas vias água de bebida ou alimentar. Níveis satisfatórios de proteção são alcançados através de uma vacinação inicial, com reforços em intervalos de 3-4 meses utilizando vacinas termoestáveis (ALEXANDER *et al.*, 2004). Esses intervalos podem ser aumentados de acordo com a situação epidemiológica da região, ou seja, inicialmente vacinações com intervalos de três meses para o primeiro ano de introdução de vacinas,

podendo chegar a seis meses para anos subseqüentes em regiões não endêmicas (THEKISOE *et al.*, 2004). Entretanto, THEKISOE *et al.*, (2004) e BISWAS *et al.*, (2005) relatam a necessidade de revacinações 2-3 semanas após a primovacinação para aves vacinadas pela via ocular.

Na avicultura industrial os programas de vacinação que empregam vacinas vivas contra o VDN, utilizam as vias oral ou água de bebida e “spray” ou aerosol (HOFACRE *et al.*, 1986). Para as criações de GFQ, merecem destaque as vias pela água de bebida e alimentar. Nas vacinações orais, a imunização local também está presente, embora em quantidade inferior à detectada pela vacinação via ocular e nasal uma vez que a resposta local (IgA), apesar de tratar-se da imunoglobulina predominante nas secreções traqueobronquiais, encontra-se também nas gastrointestinais das aves (LESLIE *et al.*, 1971; SHARMA, 2003). As vacinações orais induzem a uma produção de imunoglobulinas IgG no soro comparável as encontradas nas vias ocular e nasal, sendo associadas diretamente a sobrevivência das aves frente a infecções sistêmicas, entretanto não são tão efetivas para inibirem a replicação primária dos vírus nos sítios de entrada (SCHAT, 2001). Segundo IHGGINS & WARR (2000), as aves vacinadas através de aerossóis conseguem estimular tecidos linfóides locais resultando numa intensa produção de imunoglobulinas locais IgA detectadas através das secreções nasais, lágrima e saliva. MEULEMANS *et al.*, (1975) relataram que a vacinação contra a DN por aerosol em pintos de um dia é eficaz, embora possa causar reação vacinal mais severa. Convém mencionar ainda que a administração massal induz a uma menor uniformidade nos títulos quando comparada à administração individual conduzindo a um maior número de aplicações (KOUWENHOVEN & DAVELLAR, 1993).

Alguns fatores são muito importantes para melhorar a resposta vacinal via água de bebida em GFQ e, dentre estes, merecem destaque o período de jejum superior ao que é fornecido a aves industriais (THEKISOE *et al.*, 2004), e o volume de água calculado por ave variando entre 5-7ml (ALEXANDER *et al.*, 2004). É importante mencionar também que as GFQ conseguem suprir parte de suas necessidades de água através de alimentos verdes e frutas de livre acesso, e este fator também deve ser levado em consideração para elaboração de práticas vacinais.

Para as GFQ vacinadas pela via água de bebida recomenda-se uma primovacinação seguida de reforço após 2-3 semanas e revacinações a cada três meses (ALEXANDER *et al.*, 2004; THEKISOE *et al.*, 2004; BISWAS *et al.*, 2005). Convém mencionar ainda que esta é considerada uma via de predileção para vacinações de GFQ por proprietários asiáticos e africanos (THEKISOE *et al.*, 2003; THEKISOE *et al.*, 2004; WAMBURA *et al.*, 2000).

Na atualidade, muitos estudos sobre vacinações contra o VDN têm sido realizados em diversos países da África, da Ásia e na Austrália, utilizando-se estirpes termoestáveis aplicadas em GFQ, administradas via alimentar (BELL *et al.*, 1995; REHMANI, 1996; BENSINK e SPRADBROW, 1999; FOSTER *et al.*, 1999; OAKELEY, 2000; WAMBURA *et al.*, 2000; THEKISOE *et al.*, 2004) e por via injetável, com adjuvantes oleosos (REHMANI & SPRADBROW, 1995).

Falhas na proteção associadas a esta via estão relacionadas à utilização de grãos inadequados, a possibilidade de que a vacina não se dissolva bem quando misturada aos mesmos, o fato da via alimentar não ser recomendada pelos fabricantes das vacinas e ainda, as galinhas não ingerem doses exatas quando a vacina é fornecida, sendo assim, galinhas adultas costumam ingerir uma quantidade superior como sinal de dominância intimidando as galinhas jovens (BACALLAO *et al.*, 1998; THEKISOE *et al.*, 2004).

De acordo com OAKALEY (2000), a eficácia de vacinações realizadas pela via alimentar utilizando grãos é altamente variável. Desse modo, réplicas de trabalhos utilizando grãos como veículo em vacinações pela via alimentar nas condições sugeridas tem apresentado resultados divergentes (RUSHTON, 1995) e o número de aplicações de vacinas utilizadas para alcançar níveis satisfatórios de proteção também tem sido bastante variável (SAMUEL *et al.*, 1993).

As limitações atribuídas a via de administração alimentar resultam em uma multiplicidade de aplicações de vacinas para alcançar níveis de proteção adequados nas GFQ (ALDERS & SPRADBROWN, 2001), sendo recomendada desde uma primovacinação seguida de reforço após 2-3 semanas e revacinações a cada três meses (ALEXANDER *et al.*, 2004;

THEKISOE *et al.*, 2004) até mesmo seis ou doze revacinações anuais para alcançar um bom nível de proteção (PALYA, 1998). Desse modo, os custos através desta via de administração em termos de vacinas, grãos e trabalho, e principalmente, a eficácia da mesma devem ser levados em consideração.

3.0 JUSTIFICATIVA

A prevenção da DN encontra-se bem equacionada na avicultura industrial pela adoção de medidas de biossegurança, uso de vacinas e de métodos de vacinação eficazes. Devido à patogenicidade potencialmente devastadora de seu agente etiológico, esta enfermidade é motivo de permanente preocupação para o avicultor, em virtude dos riscos de infecção dos plantéis a partir de aves silvestres e GFQ. Entretanto, o segmento avícola brasileiro não dispõe de metodologia de prevenção da doença para a DN em GFQ. Desse modo, o conhecimento da situação epidemiológica atual e avaliações de estratégias de vacinação acarretarão um controle mais eficiente em GFQ e, conseqüentemente, em aves industriais na RMF.

4.0 HIPÓTESE CIENTÍFICA

É possível que os surtos ocorridos nos criatórios de GFQ da RMF que resultam em alta mortalidade em poucos dias sejam em virtude da DN.

5.0 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

O Experimento 1 teve por objetivo realizar um levantamento sorológico contra o vírus da DN em GFQ localizados na RMF.

O Experimento 2 teve por objetivo comparar três vias de administração de vacinas em galinhas jovens e adultas pertencentes a criatórios de GFQ e estimar os intervalos de revacinações contra a DN.

5.2 Objetivos específicos

Determinar prevalência e a frequência de distribuição dos títulos de anticorpos contra o VDN em GFQ localizadas na RMF.

Avaliar a resposta imune humoral de GFQ jovens e adultas através de três vias de administração de vacinas contra o VDN mediante a estirpe La Sota.

Estimar intervalos de revacinações para GFQ jovens e adultas submetidas às três vias de administração de vacinas contra o vírus da DN.

6.0 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Experimento 1

6.1.1 Área estudada

A RMF localiza-se no Norte do estado do Ceará (3°,44'-6°,01'/38°,23'-38°,57'), no território brasileiro. Os índices pluviométricos da mesma durante todo o ano variam entre 1.111-1.532 mm e a altitude não ultrapassa 14,23-68m (acima do nível do mar). Com uma população de 3.497.826, que representa 1/3 da população do estado, esta região está distribuída em apenas 2,4% do território estadual (IBGE, 2005).

6.1.2 Galinhas

Foram utilizadas neste estudo GFQ, de origem genética desconhecida, com idade superior a dois meses. As mesmas foram escolhidas de forma aleatória e eram submetidas a sistemas extensivos ou semi-intensivos.

Para fins de classificação de soropositividade das galinhas, esta pesquisa considerou como determinantes títulos iguais ou acima de $\log_2 1$ (CHRYSOSTOME *et al.*, 1995; THEKISOE *et al.*, 2003).

6.1.3 Criatórios

Foi realizado um levantamento sorológico em 44 criatórios inseridos nos municípios de Aquiraz (n=7), Caucaia (n=7), Eusébio (n=7), Horizonte (n=8), Maracanaú (n=8) e Pacatuba (n=7), todos pertencentes à RMF, conforme Figura 1. Foram amostradas 10 galinhas de cada criatório, das quais foi coletado sangue, obtendo-se 440 amostras de soro no total.

Fig. 1. Municípios pertencentes à RMF, estado do Ceará.



Fonte: http://www.ceara.com.br/cepg/mapa_ceara.htm

Os criatórios apresentavam populações variáveis entre 10 e 25 aves ALEXANDER *et al.*, (2004), densidade e arraçoamento variáveis em função do poder aquisitivo dos proprietários, nunca haviam sido submetidas a nenhum tipo de vacinação e distanciavam no mínimo 3Km de granjas comerciais.

Para fins de classificação de criatórios com galinhas de “fundo de quintal” sororeagentes ou não, considerou-se como positivo todo criatório que apresentasse duas ou mais galinhas com títulos iguais ou superiores a $\log_2 1$ (GUTIERREZ-RUIZ *et al.*, 2000).

6.1.4 Questionário

Antes da realização das coletas de sangue, um questionário de múltipla escolha foi aplicado objetivando avaliar as percepções dos proprietários quanto ao perfil sanitário de suas criações, com destaque para a DN. Conforme anexo 3.

6.2 Experimento 2

6.2.1 Galinhas

Foram utilizadas neste estudo 135 GFQ, de origem genética desconhecida e idades iniciais de até três e seis meses para galinhas jovens e adultas, respectivamente, provenientes de criatórios particulares e feiras livres do município de Cascavel, situado a 52 Km da capital Fortaleza estado do Ceará, Brasil. Estas galinhas foram criadas em sistema semi-intensivo de criação com densidade inferior a uma ave por m² e foram alojadas em galpões experimentais em uma propriedade localizada no município de Pindoretama, situado a 45 Km de Fortaleza. Estes galpões distanciavam entre si por 100 metros. Durante todo o período experimental as galinhas foram alimentadas com ração comercial, frutas, hortaliças, gramíneas e água *ad libitum*.

6.2.2 Tratamentos

Um total de 135 GFQ foram submetidas a três tratamentos os quais diferiram em relação à via de administração utilizada na vacinação, sendo estas: via ocular, água de bebida e alimentar. As vias de administração (tratamentos) foram representadas por 40 galinhas, sendo 20 jovens (até três meses de idade) e 20 galinhas adultas (até seis meses de idade), identificadas individualmente com anilhas numeradas. Houve também um grupo controle (GC) de galinhas não vacinadas representado por 15 animais.

6.2.3 Vias de administração de vacinas

6.2.3.1 Água de bebida

Para vacinar as galinhas através da água de bebida, foi adotado o protocolo proposto por THEKISOE *et al.*, (2004), submetendo-as a um jejum hídrico de 14 horas antes da administração da vacina. A vacina foi preparada da seguinte forma: 1000 doses da vacina liofilizada foram diluídas em 1000 mL de água destilada. Após a dissolução, uma alíquota de 80 mL de solução vacinal foi rediluída em 240 mL de água destilada, adicionado leite em pó desnatado na proporção de 2g/mL de solução seguindo de imediata distribuição em bebedouros. Cada ave recebeu aproximadamente 8 mL de solução vacinal, conforme ALEXANDER *et al.*, (2004) resultando na administração média de duas doses por ave.

6.3.2.2 Ocular

A vacina foi preparada no momento da vacinação onde 1000 doses da vacina liofilizada foram diluídas em 30 mL de diluente industrial. Cada ave recebeu duas gotas oculares correspondendo a 0,06 mL sendo em média duas doses por ave.

6.3.2.3 Alimentar

Na noite anterior a vacinação, 2 kg de milho triturados de boa qualidade passaram por um cozimento de 15' em 2 litros de água e permaneceram *over night* até o momento da vacinação, conforme protocolo estabelecido por THEKISOE *et al.*, (2004). Nos dias destinados às vacinações as aves não foram alimentados pela manhã com o intuito de provocar um jejum alimentar de 16 horas (JORGE *et al.*, 1998).

Para o preparo da vacina, 1000 doses foram diluídas em 1000 mL de água destilada. Uma alíquota de 80 mL da suspensão vacinal foi adicionada ao milho cozido e, imediatamente após o preparo, distribuído em comedouros resultando na administração em média de duas doses por ave, conforme protocolo proposto por THEKISOE *et al.*, (2004).

6.4 Programa de vacinação e coletas de sangue

As vacinas contra a DN foram adquiridas no comércio especializado local, sendo as mesmas utilizadas na avicultura industrial compostas de estirpe viva atenuada La Sota (título $10^{6.5}$ DIE₅₀/dose – dados fornecidos pelo fabricante da vacina). O programa de vacinação contra a DN constou de uma primovacinação no dia 1 e dois reforços efetuados com 15 e 105 dias. As coletas de sangue foram realizadas com 1, 15, 45, 105 e 140 dias, conforme Tabela 1.

Foram selecionadas aleatoriamente 10 galinhas jovens e 10 adultas de cada via de administração (tratamento) e 10 galinhas do grupo controle, sendo realizada uma sorologia pareada das mesmas galinhas nas cinco coletas realizadas.

Tabela 1. Cronograma das coletas de sangue para obtenção de soro e vacinações realizadas nas aves jovens e adultas submetidas às três vias de administração de vacinas.

Vacinações (dias)	Coletas de Soro (dias)
OC/AB/AL	OC/AB/AL/CG
1	1
15	15
-	45
105	105
-	140

OC = Ocular, AB= Água de bebida, AL= Alimentar e GC= Grupo Controle

6.5 Análise sorológica

O sangue foi obtido pela venopunção aspirativa da veia braquial (3,0 mL/ave). Três horas após a retração do coágulo, os soros foram separados, identificados, acondicionados em isopor com gelo biológico e remetidos ao Laboratório de Estudos Ornitológicos da Faculdade de Veterinária da

Universidade Estadual do Ceará permanecendo até a realização da prova sorológica.

Foi utilizado o teste IH para detecção de anticorpos séricos contra o VDN, proposto por BEARD & HANSON (1984), no qual a quantidade de vírus é mantida constante, enquanto o soro é diluído em série. O teste IH foi realizado em microplacas fundo em 'v' de 96 orifícios com diluição inicial de 1:2. O antígeno foi diluído em 4 unidades hemaglutinantes (UHA) e os títulos expressos em \log_2 .

6.6 Análise Estatística

No Experimento 1, as análises relativas à prevalência do VDN nos municípios estudados foram executadas através do teste de Qui-quadrado com $p < 0,001$.

No Experimento 2, os dados relativos aos títulos obtidos através do teste de IH foram inicialmente submetidos aos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk, para confirmação da normalidade da distribuição, e ao teste de Bartlett para verificação da homogeneidade de variância entre os tratamentos. Nos casos em que foram atendidas as exigências para realização da análise de variância (ANOVA), esta foi executada por meio do procedimento GLM do programa SAS (1999) e as médias das variáveis para cada tratamento experimental foram comparadas por meio do teste de Duncan, de acordo com os critérios estabelecidos por SAMPAIO (2002) de número de tratamentos testados e coeficiente de variação observado. Em algumas situações foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, em virtude do não atendimento das exigências básicas para realização da ANOVA. As médias foram consideradas significativamente diferentes quando $p < 0,05$ e os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão.

7.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 EXPERIMENTO 1

O conhecimento da epidemiologia das doenças é de fundamental importância para fins de delineamento de programas de controle (SIMON & ISIHZUKA, 2000). Nesse contexto, a adoção de monitorias sorológicas surge como um instrumento rápido e prático por revelar contato das aves com os respectivos agentes, demonstrando a presença ou a circulação de agentes etiológicos na população (YODER Jr, 1997).

No Brasil, a situação da DN em relação às aves industriais está sendo normatizada através do Programa de Regionalização Sanitária da Avicultura brasileira proposto pelo MAPA. Entretanto, o segmento avícola representado por GFQ e silvestres dispõe de poucos e isolados trabalhos realizados.

De acordo com os resultados obtidos no experimento 1, a soroprevalência de GFQ com anticorpos contra o VDN dos criatórios da Região Metropolitana de Fortaleza no estado do Ceará foi de 43,66%, conforme mostrado na Tabela 2. Essa prevalência foi determinada segundo THRUSFIELD (1995) pela divisão do número total de amostras soropositivas pelo número da amostragem total

Pesquisas realizadas por diversos autores, resultaram em percentuais de soroprevalência inferiores ao deste estudo. OLIVEIRA JR *et al.*, (2003) avaliaram o perfil imunológico de GFQ no estado do Rio de Janeiro, contra esse vírus, e encontrou uma porcentagem de 1,37%, enquanto que GUTIERREZ-RUIZ *et al.*, (2000) encontraram prevalência de 2,2% para GFQ no estado de Yucatan, México. MCBRIDE *et al.*, (2001) detectaram soroprevalência de 4% em “galinhas de criatórios de fundo de quintal” no estado da Califórnia, EUA, através do teste de ELISA. Um estudo realizado na província de Qwa-Qwa, na África do Sul, revelou que 5% das aves amostradas apresentaram anticorpos contra o VDN e os autores concluíram

que a DN foi uma das principais enfermidades que acometeram as GFQ nessa província (THEKISOE *et al.*, 2003). A elevada presença de anticorpos específicos contra o VDN observada neste trabalho, em aves não vacinadas, pode ser um indicativo de desafio de campo nas aves estudadas, com estirpes locais (CHRYSOSTOME *et al.*, 1995).

Tabela 2. Criatórios e galinhas soropositivos contra o VDN oriundos da RMF.

Municípios	Criatórios avaliados	Nº de criatórios com galinhas soropositivas para VDN	Percentagem de galinhas soropositivas para o VDN (valor absoluto)
Aquiraz	7	2/7	27,15%
Caucaia	7	4/7	24,29%
Eusébio	7	4/7	42,86%
Horizonte	8	8/8	62,50%
Maracanaú	8	7/8	73,75%
Pacatuba	7	4/7	31,43%
Total	44	29/44	43,66%

Nº = Número de criatórios, VDN= Vírus da Doença de Newcastle.

A maioria das amostras avaliadas (91,66%) apresentou títulos de anticorpos iguais ou inferiores a $\log_2 5$, no entanto apenas (8,34%) das amostras apresentaram títulos variando entre $\log_2 6$ e $\log_2 9$ (Figura 2). Convém mencionar ainda que nos criatórios avaliados, os títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 mostraram uma tendência uniforme. De acordo com CHRYSOSTOME *et al.*, (1995) as estirpes VDN velogênicas normalmente induzem títulos elevados quando comparadas às estirpes VDN lentogênicas, sendo esses iguais ou superiores a $\log_2 10$. Segundo PAULILLO & DORETTO Jr (2002), o desafio com estirpes VDN velogênicas freqüentemente induz a um índice de mortalidade em torno de 100%, entretanto, é comum a presença de aves sorologicamente negativas durante os surtos (CRESPO *et al* 1999). Os nossos resultados corroboram com os encontrados por SPRADBROW & SABINE (1995) e podem ser justificados levando-se em consideração que, a maioria das viroses é de baixa virulência, todavia, a doença é de difícil reversão, para isso faz-se necessário adoção de medidas que contribuam com a diminuição da incidência do vírus.

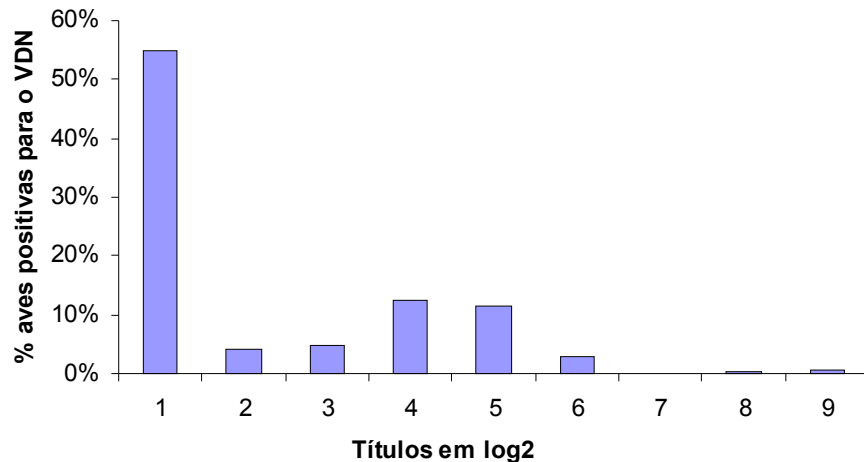


Fig. 2. Distribuição dos títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em log₂ nas GFQ não vacinadas provenientes da RMF.

A frequência de criatórios com galinhas positivas nos municípios de Horizonte e Maracanaú foi estatisticamente superior a frequência de criatórios com galinhas positivas nos municípios de Aquiraz, Caucaia, Eusébio e Pacatuba avaliados pelo teste do Qui-quadrado com 0,1% de probabilidade. Os municípios de Horizonte e Maracanaú correspondem a regiões com alta densidade populacional de criatórios industriais. Desse modo, as aves pertencentes a estes municípios podem atuar como reservatório de vírus, e por tanto doenças, para a avicultura industrial (CAPUA *et al.*, 2002).

De um total de 44 criatórios avaliados, 29 deles (63,63%) apresentaram aves soropositivas (IH/VDN \geq Log₂1) com títulos de anticorpos contra o VDN com histórico de doença respiratória e elevada mortalidade. Houve uma relação direta da presença de anticorpos para o VDN nas aves e histórico de doença respiratória nessas criações.

Aproximadamente 56 % das amostras avaliadas não apresentaram títulos de anticorpos detectáveis contra o VDN pelo uso da técnica de IH. Quando o VDN acomete as aves, os títulos de anticorpos elevam-se entre 6 a 10 dias após a infecção e declinam lentamente, eventualmente retornando a zero (ALEXANDER, 1991b). De acordo com CHRYSOSTOME *et al.*, (1995), as aves podem tornar-se soronegativas decorrido um longo tempo do desafio viral. Assim sendo, a não detecção de anticorpos contra o VDN, através do

teste IH nas propriedades avaliadas, sugere que as aves dessas propriedades podem estar susceptíveis ao desafio pelo VDN de campo (ALLAN & GOUCH, 1974), o que suscita e corrobora ainda mais com a tese da adoção de medidas imunoproláticas nesses locais (CHRYSOSTOME *et al.*, 1995).

A DN consiste em uma enfermidade de importância relevante e distribuição mundial (ALEXANDER, 1997) e a principal medida de controle em áreas epizóticas consiste na vacinação das aves (CHEN & WANG, 2002). A comercialização e a movimentação de aves entre vilas e regiões é uma característica do sistema de criação de GFQ permitindo a utilização de animais para celebrações, festivais, presentes e como fonte de renda. Essas movimentações inevitavelmente influenciam a epidemiologia da doença e dificultam a adoção de medidas de controle (SONAYA *et al.*, 1999). De acordo com CHRYSOSTOME *et al.*, (1995), os países que adotaram práticas de vacinações apresentaram melhorias significativas no controle dessa doença. JOHNSTON *et al.*, (1992) avaliaram a eficácia das vacinações contra DN e concluíram que o retorno econômico foi de 65%. Resultados semelhantes foram observados na cidade de Berlim, Alemanha, onde a vacinação promoveu uma proteção e um aumento da população de aves, a qual constitui uma medida significativa para manutenção das mesmas (CHRYSOSTOME *et al.*, 1995).

Nos trabalhos de levantamento epidemiológico, o questionário constitui uma importante ferramenta na coleta de dados, enriquecendo o confronto dos dados obtidos com os oriundos através do histórico.

Um total de 38 (86,36%) dos 44 proprietários entrevistados eram desempregados ou pensionistas e apresentavam baixos índices de escolaridade. Na maioria das propriedades (52,27%), a mulher era a principal responsável pela criação e manutenção desse sistema de criação. Esses resultados corroboram aos encontrados por UDO *et al.*, (2006), o qual relatam que a mulher, nesse tipo de propriedade, destaca-se na criação desses animais.

Em torno de 72% dos proprietários mencionaram que pelo menos uma vez nos últimos quatro anos perderam, praticamente, todas as suas galinhas em virtude de enfermidade que durou um período máximo de dois dias. Os principais sinais clínicos relatados eram respiratórios ou nervosos.

Esses resultados diferem dos obtidos por GUTIERREZ-RUIZ *et al.*, (2000) em uma pesquisa de soroprevalência conduzida no município de Yucatan, México, onde os principais sinais observados foram respiratórios seguidos de entéricos. Somente 6,8% observaram esta sintomatologia em outras espécies de aves tais como patos ou perus. Segundo trabalho realizado por FACON *et al.*, (2005), GFQ e galinha de angola apresentavam uma maior susceptibilidade quando comparadas a outras espécies como faisões e perus. De acordo com JORDAN & PATTISON (1996), mais de 200 espécies de aves são susceptíveis às infecções naturais ou experimentais do VDN e acredita-se que algumas espécies são mais susceptíveis que outras.

A maioria dos entrevistados relatou que uma grande parte dos surtos ocorria dentro do período das chuvas, com maior intensidade entre os meses de março a maio. Segundo trabalho realizado por THEKISOE *et al.*, (2004), isto se deve ao estresse do período chuvoso o qual debilita o sistema imune das aves, desse modo seria importante incluir os meses que antecedem o período chuvoso nos programas de vacinação com o intuito de preparar o sistema imune para esta estação. Alguns autores observaram um aumento na frequência dos surtos na época de festividades em virtude da movimentação das aves entre as vilas (SONAYA *et al.*, 1999; NAHO *et al.*, 2004).

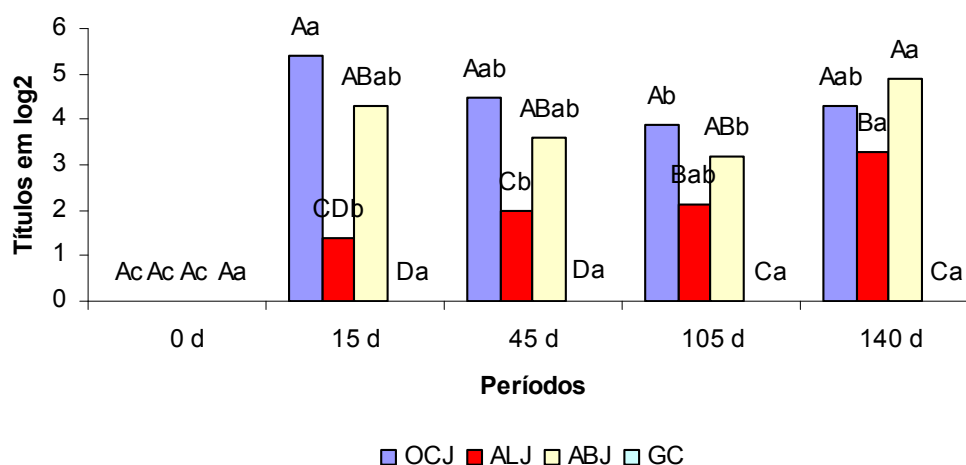
Todos os proprietários relataram que suas aves permaneciam soltas durante o dia e mantinham contato com aves silvestres. Investigações epidemiológicas têm alertado sobre o papel de aves silvestres em atuar como um potencial reservatório na veiculação do vírus de uma propriedade para outra durante surtos (THEKISOE *et al.*, 2003) e para plantéis de aves industriais (GLAUCIA *et al.*, 2003).

Um total de 77,27% dos entrevistados acredita que as práticas de vacinação promoveriam uma diminuição no índice de mortalidade em seus animais e 93,18% gostariam de utilizá-las em suas propriedades.

7.2 EXPERIMENTO 2

7.2.1 GALINHAS JOVENS

No experimento 2, não foram detectados anticorpos contra o VDN nas GFQ jovens antes da primovacinação para as três vias avaliadas e as galinhas pertencentes ao grupo controle não apresentaram títulos em \log_2 durante todos os meses avaliados, conforme mostrado na Figura 3. Desse modo, a soroconversão anti-VDN das galinhas relacionou-se diretamente com a vacinação (JORGE *et al.*, 1998).



OCJ = Ocular Jovem, ABJ= Água de bebida Jovem, ALJ= Alimentar Jovem e GC= Grupo Controle.

Fig. 3. Títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 das GFQ jovens vacinadas pelas vias ocular, água de bebida e alimentar contra o VDN.

A estirpe lentogênica La Sota é usada com eficácia em diversos países do mundo AKCADAG *et al.*, (1984); PAULILLO *et al.*, (1987); KNEZEVIC (1989); REDDY *et al.*, (1992) e a extensa literatura envolvendo esta estirpe reporta que ela é bem sucedida pelas vias ocular e água de bebida (BACALLAO *et al.*, 1998). Esses resultados corroboram aos encontrados neste trabalho para as galinhas jovens vacinadas pelas vias ocular e água de bebida as quais não apresentaram diferenças estatísticas significativas durante todos

os períodos avaliados ($p < 0,05$). Entretanto, convém mencionar que os títulos obtidos através do IH nas galinhas jovens aos 15 dias correspondem a um resultado fora do comum para avaliação de uma primovacinação com intervalo entre duas semanas.

A Tabela 3 apresenta a porcentagem de galinhas de fundo de quintal jovens com títulos obtidos através do IH iguais ou superiores a $\log_2 3$, conforme KAPENZYSKI & KING (2005), através do programa vacinal estabelecido utilizando a estirpe La Sota contra o VDN.

Tabela 3. Porcentagem de GFQ jovens com títulos obtidos através do IH iguais ou superiores a $\log_2 3$ vacinadas pelas vias ocular, água de bebida e alimentar contra o VDN.

Vacinações (dias)	Respostas às vacinações (dias)	OCJ (%)	ABJ (%)	ALJ (%)
0	15	100	80	30
15	45	90	80	40
105	140	100	100	70

OCJ = Ocular Jovem, ABJ= Água de bebida Jovem, ALJ= Alimentar Jovem e %= Porcentagem.

Podemos verificar, através dos valores brutos dos títulos obtidos através do IH e expressos em \log_2 , que as galinhas jovens vacinadas pela via ocular apresentaram um percentual igual ou superior de galinhas positivas nas respostas às vacinações avaliadas aos 15, 45 e 140 dias, seguidas pelas vias água de bebida e alimentar.

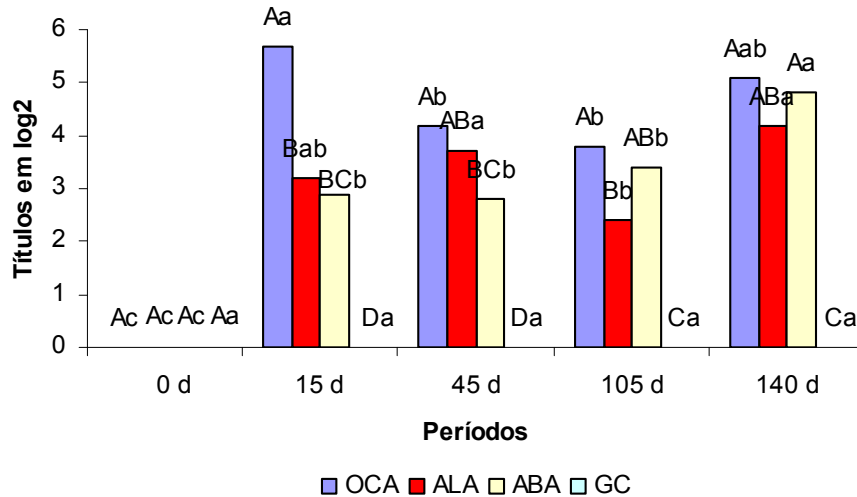
Nas respostas as vacinações avaliadas aos 15, 45 e 140 dias, não ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) nos títulos das galinhas jovens entre as vias ocular e água de bebida, diferindo, entretanto dos títulos obtidos nas galinhas vacinadas pela via alimentar ($p < 0,05$). Segundo AMAKYE-ANIM *et al.*, (1998), o processo de vacinação pelas vias ocular e água de bebida tem demonstrado resultados superiores ao da via alimentar, alcançando proteção satisfatória através de uma dose usando estirpes V4 e/ou I2 (FOSTER *et al.*,

1999; WILCOX, 1999). Trabalho realizado por THEKISOE *et al.*, (2004), avaliando diferentes vias de administração de vacinas, resultou em títulos médios em (\log_2) significativamente mais baixos das galinhas vacinadas pela via alimentar em detrimento às vias ocular e água de bebida. Segundo o mesmo pesquisador, alguns fatores podem ser atribuídos, dentre eles, é possível que a vacina não se dissolva bem quando misturada aos grãos, a via alimentar não faz parte das vias recomendadas pelos fabricantes da vacina e ainda, as galinhas não ingerem doses exatas quando a vacina é fornecida, sendo assim, galinhas adultas costumam ingerir uma quantidade superior como sinal de dominância intimidando as galinhas jovens.

Nas vacinações realizadas pelas vias água de bebida e alimentar, a imunidade local também está presente, embora em quantidade inferior a detectada pela vacinação via ocular uma vez que a resposta local (IgA), apesar de tratar-se da imunoglobulina predominante nas secreções traqueobronquiais, encontra-se também nas gastrointestinais das aves (LESLIE *et al.*, 1971; SHARMA, 2003). Segundo SCHAT (2001), as vacinações orais induzem produção de imunoglobulinas IgG no soro comparável às observadas na via ocular, sendo associadas diretamente a sobrevivência das aves frente a infecções sistêmicas, entretanto não são tão efetivas para inibir a replicação primária dos vírus nos sítios de entrada.

7.2.2 GALINHAS ADULTAS

A exemplo do que ocorreu nas galinhas jovens, títulos de anticorpos contra o VDN não foram detectados nas galinhas adultas antes da primovacinação para as três vias avaliadas. Aliado a esse fato, as três vias de administração de vacinas (ocular, água de bebida e alimentar) apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) dos títulos em \log_2 quando comparadas com o grupo controle negativo (Figura 4).



OCA = Ocular Adulto, ABA= Água de bebida Adulto, ALJ= Alimentar Adulto e GC= Grupo Controle.

Fig.4. Títulos obtidos através do IH e expressos em log₂ das GFQ adultas vacinadas contra o VDN pelas vias ocular, água de bebida e alimentar utilizando a estirpe La Sota.

Neste trabalho, a estirpe La Sota foi efetiva na ativação da resposta imune humoral das galinhas adultas, resultando na produção de anticorpos detectados através do teste de IH. Esses resultados, entretanto, discordam dos obtidos por MOKHTAR *et al.*, (1986) e PAULILLO *et al.*, (1987), os quais verificaram que a vacinação em galinhas adultas, com mais de um ano de idade, não foi capaz de provocar reforço imunológico perceptível pelo teste de IH.

A Tabela 4 apresenta a porcentagem de galinhas de fundo de quintal adultas vacinadas com títulos obtidos através do IH iguais ou superiores a log₂3 conforme KAPEZYNSKI & KING (2005) através do programa vacinal estabelecido mediante a estirpe La Sota.

Tabela 4. Porcentagem de GFQ adultas com títulos obtidos através do IH iguais ou superiores a $\log_2 3$ vacinadas pelas vias ocular, água de bebida e alimentar contra o VDN.

Vacinações (dias)	Respostas às vacinações (dias)	OCA (%)	ABA (%)	ALA (%)
0	15	100	70	60
15	45	90	70	80
105	140	100	100	90

OCA = Ocular Adulto, ABA= Água de bebida Adulto, ALJ= Alimentar Adulto e % Porcentagem.

O percentual de galinhas adultas vacinadas, mediante análise dos valores brutos dos títulos em \log_2 , mostrou resposta percentual igual ou superior de galinhas positivas vacinadas pela via ocular avaliadas aos 15, 45 e 140 dias. A via água de bebida apresentou resultado similar à via ocular aos 140 dias e superiores à via alimentar aos 15 e 140 dias, sendo semelhante à mesma aos 45 dias. Entretanto, as galinhas adultas vacinadas pela vias ocular e água de bebida apresentaram um percentual igual ou superior a 70% das galinhas avaliadas nas respostas as vacinações.

De forma semelhante aos resultados obtidos nas galinhas jovens, os títulos obtidos através do IH nas galinhas adultas aos 15 dias correspondem a um resultado fora do comum para avaliação de uma primovacinação com intervalo entre duas semanas. Estatisticamente, a vacinação pela via ocular nas galinhas adultas apresentou resultados superiores à via água de bebida e alimentar na primeira resposta à vacinação aos 15 dias. Aos 45 dias, os resultados obtidos pela via água de bebida foram inferiores aos obtidos pela via ocular e aos 140 dias não houve diferença significativa para as três vias avaliadas ($p < 0,05$). De acordo com trabalho realizado por REHMANI (1996), comparando a eficácia das estirpes La Sota pelas vias ocular e água de bebida por 7 semanas, a vacinação pela via ocular apresentou melhores resultados nas semanas 3, 4, e 5, entretanto, houve um significativo decréscimo ($p < 0,05$) dos títulos médios de anticorpos nas semanas 6 e 7 para as duas vias

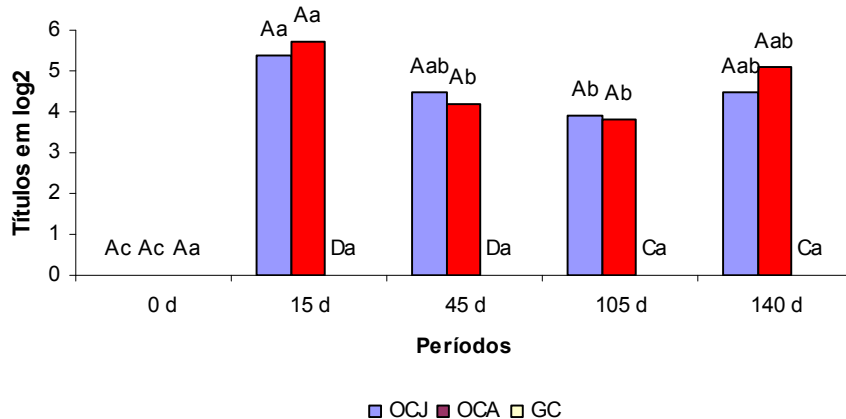
avaliadas. KAPEZYNSKI & KING (2005) constataram a resposta imune humoral durante 7 semanas através do teste de ELISA conferida com uma única aplicação de vacina comercial B1 em aves vacinadas pelas vias ocular e água de bebida.

Segundo TANAKA & KIDA (1996) e SCHAT (2001) a eficácia da vacinação aplicada pela via ocular pode ser explicada em virtude de um maior estímulo de imunoglobulinas locais IgA, e estas, em associação com as Imunoglobulinas IgM e IgG, conseguem assegurar uma proteção global contra infecções e, como consequência, essas aves tornam-se mais resistentes frente aos desafios.

Decorridos três meses após o segundo estímulo vacinal, aos 105 dias, os títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 das galinhas que foram vacinadas pelas vias ocular e água de bebida não apresentaram diferenças significativas, sendo diferentes, entretanto dos títulos oriundos de galinhas vacinadas pela via alimentar ($p < 0,05$). De acordo com OAKALEY (2000), a eficácia de grãos utilizados como veículos na administração de vacinas é altamente variável. Resultados obtidos com os mesmos nas condições sugeridas foram divergentes (RUSHTON, 1995) e o número de aplicações de vacinas requeridas para alcançar bons níveis de proteção em galinhas também tem sido variável (SAMUEI *et al.*, 1993).

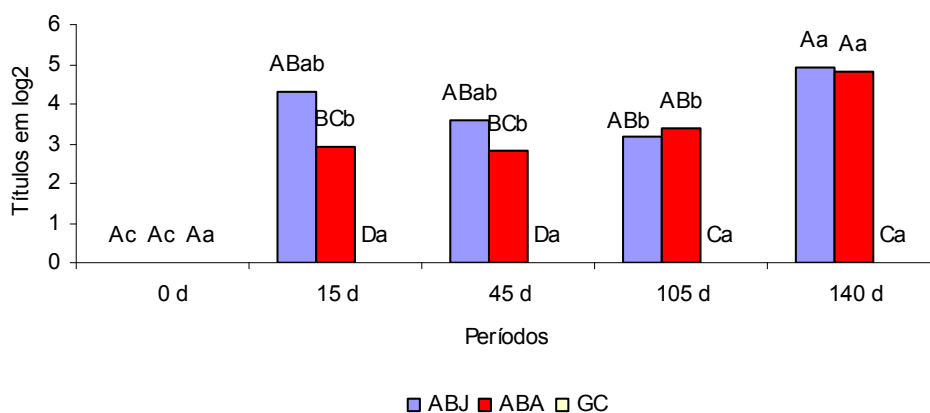
7.2.3 GALINHAS JOVENS E ADULTAS

As figuras 5 e 6 apresentam os títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 contra o VDN de galinhas jovens e adultas vacinadas pelas vias ocular e água de bebida, respectivamente.



OCJ = Ocular Jovem, OCA= Ocular Adulto e GC= Grupo Controle.

Fig. 5. Títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em log₂ de galinhas jovens e adultas vacinadas pela via ocular contra o VDN.



ABJ= Água de bebida Jovem, ABA= Água de bebida Adulto e GC= Grupo Controle.

Fig. 6. Títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em log₂ de galinhas jovens e adultas vacinadas pela via água de bebida contra o VDN.

Os títulos em log₂ das galinhas jovens e adultas vacinadas pelas vias ocular e água de bebida não apresentaram diferenças significativas durante todos os períodos avaliados ($p < 0,05$). Neste estudo, apesar da diferença de idade existente entre galinhas jovens e adultas, as apresentavam um sistema imune maduro, caracterizado pela ausência da produção de anticorpos pela Bursa de Fabricius (SIMON & ISIHZUKA, 2000). Alguns fatores

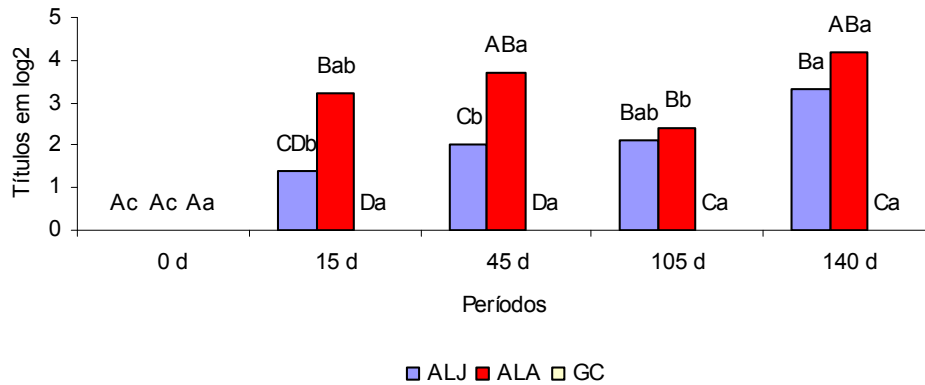
podem também contribuir para a regressão da Bursa, dentre eles, a inanição, administração de corticosteróides, presença de processos e de toxinas de microorganismos e o exercício exagerado (RIDDEL, 1987)

A revacinação aos 15 dias após a primovacinação não provocou alteração perceptível pelo teste de IH. Entretanto, a revacinação efetuada aos 105 dias alterou de modo significativo os títulos em \log_2 das galinhas jovens e adultas aos 140 dias para as duas vias avaliadas ($p < 0,05$).

Os reforços administrados 2 a 3 semanas após a vacinação inicial tiveram como um dos objetivos atingir àquelas galinhas que não foram imunizadas na primeira aplicação, a despeito da vacina conter vírus ativo que deve ter circulação entre o grupo de aves vacinadas. Em virtude do nível de segurança e proteção alcançados através da via ocular, trabalhos realizados por ALEXANDER *et al.*, (2004) demonstraram níveis satisfatórios de proteção através de uma vacinação inicial, com reforços em intervalos de 3-4 meses. Apesar dos resultados obtidos neste trabalho THEKISOE *et al.*, (2004) e BISWAS *et al.*, (2005) preconizam a necessidade de revacinações 2-3 semanas após a primovacinação para galinhas vacinadas pela via ocular e água de bebida.

As galinhas jovens e adultas vacinadas pelas vias ocular e água de bebida apresentaram reações vacinais leves cerca de 3 dias após as vacinações caracterizadas pela presença de espirros. A estirpe La Sota é mais virulenta que a estirpe HB1, entretanto induz uma maior resposta imune, sendo mais indicada para vacinação de criatórios de idades múltiplas (GLISSON & KLEVEN, 1993; ALEXANDER, 1997). Entretanto, o grande perigo é a presença de *Mycoplasma sp* em infecções subclínicas (crônicas) uma vez que grande parte das aves criadas nessas condições são portadoras.

A Figura 7 apresenta os títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 de galinhas jovens e adultas vacinadas pela via alimentar contra o VDN.



ALJ=Alimentar Jovem, ALA=Alimentar Adulto e GC= Grupo Controle.

Fig. 7. Títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em log₂ de galinhas jovens e adultas vacinadas contra o VDN pela alimentar com a estirpe La Sota.

A revacinação aos 15 dias após a primovacinação provocou uma alteração perceptível pelo teste de IH nas galinhas jovens e adultas vacinadas pela via alimentar. Esses resultados corroboram aos encontrados por PALYA (1998); ALEXANDER *et al.*, (2004); THEKISOE *et al.*, (2004), os quais afirmam a necessidade de reforços 2-3 semanas após a primovacinação para galinhas vacinadas pela via alimentar utilizando grãos como veículo.

As galinhas jovens vacinadas pela via alimentar apresentaram títulos de anticorpos expressos em log₂ inferiores as galinhas adultas aos 15 e 45 dias, essa diferença, entretanto, não foi detectada aos 105 e 140 dias ($p < 0,05$). Segundo THEKISOE *et al.*, (2003) as galinhas adultas costumam ingerir maiores quantidades de alimentos, e conseqüentemente de vacina, como sinal de dominância. Através dos resultados encontrados, é possível que aos 105 e 140 dias, com o crescimento das galinhas jovens tenha ocorrido uma diminuição da intimidação das mesmas frente a galinhas adultas resultando na ausência de diferenças significativas.

7.2.4 INTERVALOS DE VACINAÇÕES

Os títulos de anticorpos obtidos através do IH e expressos em \log_2 das galinhas jovens e adultas vacinadas através das três diferentes vias de administração demonstraram uma tendência ao decréscimo ou a manutenção dos títulos aos 45 e 105 dias ($p < 0,05$). As galinhas foram revacinadas após a quarta coleta, aos 105 dias, e houve um aumento na resposta dos títulos em \log_2 nas três vias de administração. Segundo PALYA (1998), o intervalo de revacinações para atingir um nível de proteção satisfatório em galinhas vacinadas através da via alimentar é variável, sendo necessárias seis a oito vacinações anuais. Entretanto, os resultados obtidos neste trabalho podem sugerir a necessidade de reforços decorridos dois a três meses após a primeira revacinação para galinhas vacinadas pela via alimentar. Para as galinhas vacinadas pelas vias ocular e água de bebida, os resultados sugerem revacinações decorridos três meses após a primeira vacinação, entretanto para alcançar níveis de proteção seguramente satisfatórios, deve ser realizada uma revacinação 2-3 semanas após a primovacinação, o que harmoniza com estudos realizados por THEKISOE *et al.*, (2004) avaliando a eficácia de vacina termoestável em GFQ nas três vias de administração estudadas neste trabalho e BISWAS *et al.*, (2005) avaliando a eficácia de estirpes lentogênicas pelas vias ocular e água de bebida em GFQ.

8.0 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, a mortalidade de GFQ nos municípios da RMF associados à alta prevalência de anticorpos contra o VDN sugerem ser este um dos principais causadores dos surtos ocorridos nesta região e aliado a este fato, estas galinhas podem atuar como reservatório de vírus para aves silvestres e industriais.

A vacinação contra o VDN pelas vias ocular e água de bebida nas condições realizadas neste trabalho constituem alternativas eficazes para vacinação de galinhas jovens e adultas de criatórios “fundo de quintal”, com intervalos de revacinações estimados de três meses.

A vacinação contra o VDN pela via alimentar não induziu a uma soroconversão satisfatória nas condições realizadas neste trabalho, entretanto esta hipótese poderia ter sido comprovada através de um “teste de desafio viral”.

9.0 PERSPECTIVAS

Os resultados encontrados neste trabalho alertam para a necessidade de investigações epidemiológicas contra o vírus da Doença de Newcastle em GFQ e silvestres no Brasil. Convém ressaltar ainda que a desejável obtenção de área livre do VDN e sua manutenção requerem o prosseguimento de levantamentos sorológicos não somente em aves industriais.

Aliado a este fato, os resultados deste estudo fornecem informações para a melhoria do manejo sanitário para GFQ localizados na RMF. No entanto, tornam-se necessários estudos referentes ao isolamento e caracterização dos isolados regionais do VDN, levantamentos sorológicos constantes e em outras regiões do estado, comparação entre estirpes vacinais e avaliação da resposta imune humoral em galinhas de diferentes faixas etárias e vias de administração (especialmente para via alimentar).

10.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKCADAG, B., AKAY, O., AYDIN, N., ARDA, M., IZGUR, N. Newcastle disease vaccination studies. Immune response of chickens vaccinated with La Sota virus administered in the drinking water. **Veterinary Fak Derg Ankara University**, v.31, 333-345, 1984.

ALDERS, R. G. Strategies for vaccination of family poultry against Newcastle disease in África. Proceedings of the Second IAEA/FAO Research Coordination Meeting on “**Improvement of Health and Management of Family Poultry Production in África**”. Morogoro, Tanzania, 4-8 September, 2000.

ALDERS, R.G. & SPRADBROWN, P.B. **Controlling Newcastle Disease in Village Chickens: a field manual**. Canberra, Australian Centre for International Agricultural Research Monograph., n ° 86, 2001.

ALEXANDER, D.J. Methods of Spread. In: **Newcastle disease**, D.J. ALEXANDER, Ed., Kluwer Academic Publishers, Boston , 1988, p. 256-272.

ALEXANDER, D.J. Newcastle disease. In: Rweyemammu, M.M., Palya, V., Tin Win. **Proceedings of a Workshop on Newcastle Disease Vaccines for Rural África**. Pan African Veterinary Vaccine Centre, Debre Zeit, Addis Abeba, Ethiopia, 1991a, p. 7-45.

ALEXANDER, D.J. Newcastle disease and other paramyxovirus infectious. In: CALNEK, B.W. (Eds.). **Diseases of Poultry**. 9th. ed. Ames: Iowa State University Press, 1991b, p.537-557.

ALEXANDER, D.J. The epidemiology and control of avian influenza and Newcastle disease. **Journal of Comparative Pathology**, v.112, p.105-126, 1995.

ALEXANDER, D.J. Newcastle disease and other Paramyxoviridae infections. In: Calnek, B.W.; Barnes, H.J.; Beard, C. W.; McDougland, L.; Saif, Y.M., eds, **Diseases of Poultry**, 10th ed. Ames, IA: Iowa State University Press, 1997 p. 541-69.

ALEXANDER, D.J., RUSSEL, P.H., COLLINS, M.S. Paramyxovirus type 1 infectious of racing pigeons: 1 Characterisation of isolated viruses. **Veterinary Record**, v.114, p. 444-446, 1984.

ALEXANDER, D.J., BELL, J.G., ALDERS, R.G. **Thecnology Review: Newcastle Disease**. Roma, FAO, 2004, 161p.

ALLAN, W.H. & GOUCH, R.E. A standard hemagglutination inhibition test for Newcastle disease. **Veterinary Record**, v. 95, p. 147-149, 1974.

AMAKYE-ANIM, J., ALDERS R.G., SPRADBROW, P.B. Trials with V4 Newcastle disease vaccine in Ghana. In: **Scientific Proceedings of the Fourth Asia Pacific Poultry Conference**, Melbourne (Australia), 1998.

ARASIHDO, O. **A História da avicultura brasileira**. Ed. Gessuli, 1989, 259p.

AWAN, M.A., OTTE, M.J. JAMES, A.D. The epidemiology of Newcastle disease in rural poultry: a review. **Avian Pathology**, v.23 , p. 405- 423. 1994.

BACALLAO, A., PILAR, H., VIAMONTES, O. Statistical evaluation of the results of IH test in broilers vaccinated against ND by aerosol or through drinking water. **Revista Cubana de Ciência Avícola**, v.15, p. 59-65, 1998.

BEARD, C.W. & HANSON, R.P. Newcastle disease. In: **Diseases of Poultry** 8th ed. M.S. Hofstad, H.J. Barnes, B.W. Calnek, W.M. Reid, and H.W. Yoder Eds, Iowa State University Press, Ames, 1984, p. 452-70.

BECERRA, M. & PRESTON, T.R. Developing a duck feeding system using sugar cane juice and water plants. **Livestock Research for Rural Development**, v.4, n.2, p. 257-263, 1992.

BELL, J.G., AILT BELARBI, D., AMARA, A. A controlled vaccination trial for Newcastle disease virus in village chicken flocks. **Preventive Veterinary Medicine**, v.9, p.205-300, 1990.

BELL, J.C., FOTZO, T.M., AMARA, A., AGBEDE, G. A field trial of the heat resistant V4 vaccine against Newcastle disease by eye-drop inoculation in village poultry in Cameroon. **Preventive Veterinary Medicine**, v.25, p.19-25. 1995.

BELL, J.G. & MOULOUDI, S. A reservoir of virulent Newcastle disease virus in village chicken flocks. **Preventive Veterinary Medicine**, 9, p. 295-300, 1998.

BELLUCI, M. S. P. Avaliação sorológica do vírus da doença de Newcastle em aves silvestres. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.6, n.2, p.66-68, 1999.

BENSINK, Z. & SPRADBROW, P. Newcastle disease virus strain I₂ – a prospective thermostable vaccine for use in developing countries. **Veterinary Microbiology**, v.68, p.131-139, 1999.

BISWAS, P. K., BISWAS, D., AHMED, S., RAHMAN, A., DEBNATH, N.C. A longitudinal study of the incidence of major endemic and epidemic diseases affecting semi-scavenging chickens reared under the Participatory Livestock Development Project areas in Bangladesh. **Avian Pathology**, v.34, n.4, p.303-312, 2005.

BISWAS, P. K., UDDIN, G. M. N., BARUA, H., ROY, K., BISWAS, D., AHAD, A., DEBNATH, N. C. Causes of loss of Sonali chickens on smallholder households in Bangladesh. **Preventive Veterinary Medicine**, p.196-201, 2006.

BORNE, P. M. & COMTE, S. **Vacinas e Vacinação na Produção Avícola**, Ceva Sente Animale, Gessuli Guias, Porto Feliz – SP, 2003.

BRASIL - MAPA. **Programa Nacional de Sanidade Avícola**. Portaria nº 183 de 08 de novembro de 1994 - Secretaria de Defesa Agropecuária, 1994.

CAPUA, I., SCACCHIA, M., TOSCANI, T., CARPORALE, V. Unexpected isolation of virulent Newcastle disease virus from commercial embryonated fowls'eggs.. Series B – Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe B – Infectious Diseases Immunobiology Food Hygiene Public Health. **Journal of Veterinary Medicine**, v.40, p. 609-12, 1993.

CAPUA, I., DALLA, P., POZZA, M., MUTINELLI, F., MARAGON, S., TERREGGINO, C. Newcastle disease outbreaks in Italy during 2000. **The veterinary Record**, v. 150, n.18, p.565-568, 2002.

CHEN, J. & WANG, C. Clinical epidemiologic and experimental evidence for the transmission of Newcastle disease virus through eggs. **Avian diseases**, v.46, p. 461-465, 2002.

CHRYSOSTOME, C. A. A. M., BELL, J. G., DEMEY, F., VERHULST, A. Seroprevalences to tree diseases in village chickens in Benin. **Preventive Veterinary Medicine**, v.22, p.257-261, 1995.

COLLINS, M.S. & GOUCH, R.E. Characterization of a virus associated with turkey rhinotracheitis. **Journal of Clinical Virology** , v.69, p.909-916, 1988.

COPLAND, J. W. **Newcastle disease in poultry: a new food pellet vaccine**. The Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, 1987.

CRESPO, R., SHIVAPRASAD, H.L., WOOLCOCK, P.R., CHIN, R.P., DAVIDSON-YORK, D., TARBELL, R. Exotic Newcastle disease in a game chicken flock. **Avian Diseases**, v. 3, n.2, p. 349-355, 1999.

CUNHA, R.G. & SILVA, R.A. Isolamento e identificação do vírus da Doença de Newcastle no Brasil. **Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**, v.23, p.17-33, 1955.

DESSIE, T. **Studies on the village poultry production systems in the central Highlands of Ethiopia**. M.Sc.Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 1996.

DOLBERG, F. A livestock development approach that contributes to poverty alleviation and widespread improvement of nutrition among the poor. **IFAD workshop Malnutrition in Developing Countries: generating capabilities for effective community action**, 2001, 12p.

DOYLE, T.M. A hitherto unrecorved disease of fowls due to a filter-passing virus. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v.40, p. 144-169, 1927.

FACON, C., GUERIN, J.L., LACROIX, F. Assessment of Newcastle disease vaccination of houbara bustard breeders (*Chlamydotis undulate undulate*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.41, n.4, p.768-774, 2005.

FOSTER, H.A., CIHTUKURO, H.R., TUPPA, E., MWANJALA, T., KUSILA, C., Termostable Newcastle disease vaccines in Tanzania. **Veterinary Microbiology**, v.68, p.127-130, 1999.

FRANCIS, D.W. Newcastle and psittacines, 1970-71. **Poultry Dig.**, v.32, p. 16-9, 1973.

FRENCH, E.L., GEORGE, T.D., PERCY, J.J. Infection of chickens with recently isolated Newcastle disease viruses of low virulence. **Australian Journal of Veterinary**, v.43, p. 404-409, 1967.

GADELHA, A.C., ROLIM, B.N., SANTOS, E.J.F., ALVITE, E.C., PINTO, M. J. F. D., PINTO, J.L.B, SOUZA, F.M. Farinha integral de mandioca substitui o milho e reduz o custo de produção de frangos de corte de crescimento lento de 35 a 84 dias de idade. In. **Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, João Pessoa-PB. In: 43ª Reunião da SBZ, 2006, João Pessoa. Anais da 43ª Reunião da SBZ, 2006

GLAUCIA, D., KING, D. J.; SEAL, B.S.; BROWN, C.C. Virulence of six heterogeneous-origin Newcastle disease virus isolates before and after sequential passages in domestic chickens. **Avian Pathology**, v. 32, p.81-93, 2003.

GLICK, B. The Immune System of Poultry. In: **World Animal Science** C9. P. Huton, ed. Elsevier, New York, NY. Poultry production, v. 32, 1995, p 483-524.

GLISSON, J.R. & KLEVEN, S.H. In: Vaccines for veterinary applications. PETERS, A.R. **Poultry vaccines**, 1993, p.165-173.

GUÈYE, E. F. **Diseases in village chickens: control through ethno-veterinary medicine**. ILEIA Newsletter 13, 1997, p 20-21.

GUIMARÃES, A. & SILVA, J. Generalidades sobre vírus. In: Bier, O. **Bacteriologia e Imunologia**. 15^a ed. Edições Melhoramentos, 1954, 261p.

GUNARATNE, S.P., CHANDRASIRI, A.D.N., MANGALIKA HEMALATHA, W.A. P., ROBERTS, J. A."Feed resource base for scavenging village chicken in Sri Lanka", **Tropical Animal Health and Production**, v.25, p.249-257, 1993.

GUTIERREZ-RUIZ, E.J., RAMIREZ-CRUZ, G.T., CAMARA GAMBOA, E.I., ALEXANDER, D.J., GOUCH, R.E. A serological survey for avian infectious Bronchitis virus and Newcastle disease virus antibodies in backyard (free-range) village chickens in Mexico. **Tropical Animal Health and Production**, v.32, p.381-390, 2000.

HALASZ, F. Contributions to the knowledge of fowlpest. **Veterinary Doctoral Dissertation**, Communications of the Hungarian Royal Veterinary School, Patria, Budapest, 1912, p. 1-36.

HANSON, R. P. Newcastle disease. In: **Diseases of Poultry** 6th Ed. Edited by M.S. Hofstad Iowa State University Press, 1972.

HASTENREITER, H. La maladie de Newcastle au Brésil. **Bulletin Oficial International Epizooties**, v.85, p.813-817, 1976.

HIGGINS, D.A. & WARR, G.W. The Avian Immune Response to Infectious Diseases. Special Issue. **Developmental and Comparative Immunology**, v.24, p.85-101, 2000.

HIPÓLITO, O. & FREITAS, M.G. Doença de Newcastle. In: **Doenças Infecto – Contagiosas dos Animais Domésticos**. 3^a ed. Ed. Melhoramentos. São Paulo – SP, 1963.

HOFACRE, C. L., VILLEGAS, P., PAGE, R. K. Newcastle disease vaccination of broilers with High- and low-titered commercial vaccines. **Avian Diseases**, v.30, p.623-627, 1986.

HOFSTAD, M.S. A study on the epizootiology of Newcastle disease (pneumoencephalitis). **Poultry Science**, v.28, p .530-5333, 1949.

HUQUE, Q.M.E. Nutritional status of family poultry in Bangladesh. **Livestock Research for Rural Development** , v.11, n.3, 259-262, 1999.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE de recuperação automática**, 2005. Disponível em: < <http://www.ibge.br/sidra>> Acesso em: 12 out. 2006.

IBRAHIM, A.L., IDERIS, A., BABJEE A.M. **An overview of the use of food-based Newcastle disease vaccine in Malaysia**. In: SPRADBROW, P.B., ed., Proceedings of an international workshop, Kuala Lumpur, 6-10 October 1991. Canberra, ACIAR proceedings N° 39, 1992, p. 75-79.

ITO, N.M.K. Newcastle disease virus: some biological characteristics of twelve samples isolated in Brazil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, v.23, n.1, pp.47-53, 1986.

JOHNSTON, J., FONTANILLA, B., SILVANO, F. The economic impact of vaccination of village fowls: a case study from the Philipinnes. In: SPRADBROW, P.B. (Eds.). Newcastle Disease in Village chickens, Control with Termostable Oral Vaccines. **Australian Centre for International Agricultural Research**. Camberra, 1992.

JORDAN, F.T.W., PATTISON, M. (Ed.). **Poultry Diseases**. Saunders: London, 1996, 336p.

JORGE, M.A., MARTINS, N.R.S., RESENDE, J.S., ABREU, J.A., LAZARINI, M. M. Vacinação de galinhas fundo de quintal contra a doença de Newcastle com vacina veiculada por milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, n. 2, p.123-126, 1998.

KALETA, E.F., HEFFELS-REDMANN, U., Eds. **Proceeding of the CEC Workshop on avian paramyxoviruses**, Rauschholzhausen, Germany, 1992, CEC, Geissen,1992.

KALETA, E.F. & BALDAUF, C. Newcastle disease in free-living and pet birds. In: **Newcastle Disease**, D.J. Alexander Ed., Kluwer Academic Publishers, Boston, 1988, p. 197-246.

KAPEZYNSKY, A.R. & KING, D.J. Protection of chickens against overt clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccines upon challenge with Highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle disease outbreak. **Vaccine**, v.23, p.3424-3433, 2005.

KING, D.J. & CAVANAGH, D. Infectious bronchitis. In: CALNEK, B.W., BARNES, H.J., BEARD, C.W., MCDOUGALD, L.R., SAIF, Y.M. (Eds). **Diseases of Poultry**, 9 ed. Iowa State University Press, Ames, IA, 2001, p.471-484.

KITALYI, A.J. Village chicken production systems in developing countries. What does the future hold? **World Animal Review**, v.89, p.48-53, 1998.

KNEZEVIC, N. Comparative studies on two methods of administering ND vaccines (La Sota strain) to passively immune chicks under laboratory conditions. **Arquives of Veterinary**, v.59, p.255-231, 1989.

KOUWENHOVEN, B. & DAVELLAR, F.G. The use and significance of AGP, VN and IH test in serological monitoring of VBI infection and vaccination. In: III SEMINARIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA Y PRODUCCIÓN AVIARIA. **Anais...** p.121-130, 1993.

KRANEVELD, A.J. A poultry disease in the Dutch East Indies. **Nederlands-Indische Bladen voor Diergeneeskunde**, v.38, p. 448-450, 1926.

LAMB, R.A.P.L., COLLINS, D., KOLAKOFSKY, J.A., MELERO, Y., NAGAI, M. B.A., OLDSTORE, C.R., PRINGLE, B.K. Family Paramixoviridae. In M.H.V. van Regnmortel (ed) Virus Taxonomy, Seventh Report of the International. **Committee on Taxonomy of Viruses**. Academic Press : New York, 2000, p. 549-561.

LANCASTER, J.E., Newcastle disease-control by vaccination. **The Veterinary Bulletin**, v.34, p. 57-75, 1966.

LESLIE, G.A., WILSON, H.R., CLEM, L. W. Studies on secretory immunologic system of fowl. **Journal of Immunology**, v.106, p.1441-1446, 1971.

LYRA, T.M.P., SILVA, J.M.L., SILVA, N. Estudo comparativo entre diferentes vias de aplicação da vacina contra a doença de Newcastle. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA. **Anais...** Belo Horizonte, 1979, p.400-413.

MACPHERSON, L.W. Some observations on the epizootiology of Newcastle disease. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.20, p. 155-168, 1956.

MALLIA, J.G. Observations on family poultry units in parts of Central America and sustainable development opportunities. **Livestock Research for Rural Development**, v.11, n.3, p. 48-52, 1999.

MARTINS, N.R.S. **Studies of the immunoglobulin responded to viral infectious of chickens**. England: University of Surrey. 255 p. (Thesis, Doctor). 1990.

MATTHEWMAN, R.W. **A Survey of Small Livestock Production at the Village level in the Derived Savanna and Lowland forest Zones of South West Nigeria**, University of Reading, Department of Agriculture and Horticulture, Study No. 24, ISBN No. 0-70490242-7, 1977, p.40-41.

MEULEMANS, G., VINDEVOGEL, H., HALEN, P. Vaccination contre la maladie de Newcastle. Application de la technique d'aerosol a la vaccination de paussins d'un jour, porteurs d'aerosol a la vaccination de paussins d'un jour, porteurs d'anticorps homologues d'origine maternelle. **Ann. Med. Vet.**, v.119, p.159-166, 1975.

MAYO, M.A. A summary of a changes recently approved by ICTV. **Archives of Virology**, v.147, p.1655-1656, 2002.

MCBRIDE, M.D., HIRD, D.W., CARPENTER, T.E., SNIPES, K.P., DANAYE-ELMI, C., UTTERBACK, W. W. Health survey of backyard poultry and other avian species located within one mile of commercial California meat-turkey flocks. **Avian Diseases**, v.35, n.2, p.403-407, 2001.

MCFERRAN, J.B. **Control of Newcastle disease in Northern Ireland**. Proceedings – Avian Exotic Disease Control Seminar. Animal Health Report 2 NSW Agriculture & Fisheries, Glenfield, NSW, Australia, 1989, p. 16-21.

MCFERRAN, J.B., & MCCRACKEN, R M. Newcastle disease. In: Alexander, D. J ed, **Diseases of Poultry**, Kluwer Academic Publishes, Boston, 1988, p.161-183.

MEN, B. X. & SU, V. V. Sugar cane juice and "A" molasses as complete replacement for cereal byproducts in diets for ducks. **Livestock Research for Rural Development**, v.4, n.3, p. 38-42, 1992.

MENDES, A.A., 2004. Controle da doença de Newcastle nas Regiões Norte e Nordeste. In: **VIII Seminário Nordestino de Pecuária**, Anais FAEC, Fortaleza, CE, p.39-56.

MEULEMANS, G. In: Alexander D. J., editor, **Newcastle disease**, Kluwer Academic Publishers, Boston, Control by vaccination, 1988, p.318-332.

MINGA, U.M., MTAMBO, M.M.A., KATULE, A.M., MUTAYOBA, S.K., MWALUSANYA, N.A., LAWRENCE, P., MDEGELA, R.H., OLSEN, J.E. Improving the health and productivity of the rural chicken in África: Research and development efforts in Tanzania. In: Alders, R.G. and Spradbrow, P. B. SADC, **Planning Workshop on Newcastle Disease Control in Village Chickens**. Proceedings of an International Workshop, Matupo, Mozambique, 6-9 March. ACIAR Proceedings N° 103, 2000, p.134-139.

MOBERLY, R.L., WHITE, P.C.L. HARRIS, S. Mortality due to fox predation in free-range poultry flocks in Britain. **Veterinary Record**, v.155, p.48-52, 2004.

MOKHTAR, A. M., FORSTER, U., LOHR, J.E., AZIZ, H.A., RAFIDAH, J., VOLPRECHT, M., RAHMAN, M. **Livestock production and diseases in the tropics**. Proceedings of the Fifth International Conference on Livestock Production and disease in the Tropics. Kuala Lumpur, Malaysia, 1986, p. 49-51.

MONTGOMERY, R.D., MASLIN, W.R., BOYLE, C.R. Effects of Newcastle Disease Vaccines and Newcastle Diseases/Infectious Bronchitis Combination

Vaccines on the Head-Associated Lymphoid Tissues of the Chicken. **Avian Diseases**, v.41, p. 399-406, 1997.

MUÑOZ, R. Sorologia como ferramenta para monitoria e diagnóstico. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. **Anais...**Santos, p.95-106, 2005.

NAHO, A., NDELEDJE GONDJE, N., MOPATE, L.Y., GANDA KANA, S. Newcastle disease in Southern Chad: peak epidemic periods and the impact of vaccination. **Revue Scientifique et technique** (International office of epizootics), v. 23, n.3, p. 777-782, 2004.

NOTA TÉCNICA PNSA. **Diagnóstico positivo para o vírus da Influenza aviária e doença de Newcastle em aves migratórias no município de Galinhos/RN.** Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em 23/08/2005 às 15:45h.

OAKALEY R.D. The limitations of a feed: water based heat-stable vaccine delivery system for Newcastle disease-control strategies for backyard poultry flocks in sub-Saharan Africa. **Preventive Veterinary Medicine**, v.47, p.271-279, 2000.

OLIVEIRA Jr, J.G., PORTZ, C., LOUREIRO, B.O., SCHIAVO, P.A., FEDULLO, L.P.L., MAZUR, C., ANDRADE, C.M. Vírus da doença de Newcastle em aves não vacinadas no Estado do Rio de Janeiro. **Ciência Rural**, v. 33, n.1, p.381-383, 2003.

OLIVEIRA Jr, J.G., SCHIAVO, P.A., DORETTO Jr, L., ORSI, M.A., MAZUR, C., ANDRADE, C.M. Isolamento e caracterização biológica da amostra JAP 999 do vírus da doença de Newcastle isolada de patos domésticos (*Neta sp*) no Rio de Janeiro. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.948-951, 2005.

OIE. Newcastle disease. OIE **Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines**. OIE : Paris, p. 221-232, 2000.

PALYA, V. J. **Assistance for the control of Newcastle disease plane II.** Consultance report on feed-based Newcastle disease vaccine, december 1998, FAO. Rome, p.12-22, 1998.

PANIGRAHY, B., SENNE, D. A., PEARSON, J. E., MIXSON, M. A., CASSIDY, D. R. Occurrence of velogenic viscerotropic Newcastle disease in pet and exotic birds in 1991. **Avian Diseases**, v.3, p. 254-258, 1993.

PAULILLO, A. C. & DORETTO JR, L. Doença de Newcastle. In: BERCHIERI JR, A. & MACARI, M. (Eds). **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2002, p.267-282.

PAULILLO, A. C., PINTO A. A., BERCHIERI, JR., A., ARIKI, J., SALCEDO, P. O., KRONKA, S. N., RICHTZEHAIN, L. J., NAKAGIH, L. S. O., QUINTANA, J. L. Newcastle disease: immune response to live vaccine (La Sota strain) and inactivated vaccine (oil-based) in broiler chicks carrying maternal antibodies. **Arsenal Veterinary**, v.3, p.235-242, 1987.

PELEG, B.A., SAMINA, I., BRENNER, J. Immunization of chickens with live Newcastle disease vaccine adjuvanted with oil. **Vaccine**, v.11, n.10, p.1074-1076, 1993.

REDDY, G. S., KALANIDIH, A. P., SRINIVASANT, V. A., Efficacy of Raqnikhet disease vaccines. **Indian Journal Animal Health and Production**, v.22, p.263-272, 1992.

REGE, J. E. O. & GINSON, J .P. Animal genetic resources and economic development: issues in relation to economic valuation. **Ecological Economics**. v.45, p.319-330, 2003.

REHMANI, S. F. Newcastle disease vaccination: a comparison of vaccines and routes of administration in Pakistan. **Preventive Veterinary Medicine**, v.25, p.241-248, 1996.

REHMANI, S. F., SPRADBROW, P. B. The influence of adjuvants on oral vaccination of chickens against Newcastle disease. **Veterinary Microbiology**, v.46, p.63-68, 1995.

RIDDELL, C. American association of avian pathologists. **Avian Histopathology**. Kennett Square, PA, p.7-17,1987.

RODRÍGUEZ, L. V. & SALAZAR M. P. **Lombriz roja Californiana y Azolla anabaena como sustituto del suplemento proteico en dietas no convencionales para pollos**. Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título de Zootecnista; Universidad de la Salle, Bogotá, 1991

ROSALES, A.G., VILLEGAS, P., LUKERT, P. D., FLETCHER, O. J. Pathogenicity of recent isolates of infectious bursal disease virus in Specific-Pathogen-Free chickens: protection conferred by an intermediate vaccine strain. **Avian Diseases**, v.33, p.729-734, 1999.

RUSHTON, J. **Assistance to rural women in protecting their chicken flocks against Newcastle disease**. Consultancy Report on Rural Poultry Production-Socio-Economy, December 1995, Project TCP/RAF/2376, FAO, ROME, 1995.

RUSSEL, P.H. & EZEIFEKA, G.O. The Hitchner B1 strain of Newcastle disease virus induces High levels of IgA, IgG and IgM in newly hatched chickens. **Vaccine**, v.13, p.61-66, 1995.

RWEYEMAMU, M.M., PALYA, V., WIN, T., SYLL, D. Eds. **Newcastle disease vaccines for rural Africa**. FAO Panvac, Debre Zeit, 1991.

SAINFUDDIN, M., CHOWDBURY, T.I., SARKER, A.J., AMIN, M.M. Protection conferred by vaccination with Blacksburg and Komarov strains of Newcastle disease virus against Newcastle disease in Bangladesh. **Tropical Animal Health and Production**, v.4, p.263-272, 1990.

SAMPAIO I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2ª edição. Belo Horizonte (Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia), p.1-265, 2002.

SAMUEL, J.L., BENSINK, Z., SPRADBROW, P.B. Oral vaccination of chickens with the V4 strain of Newcastle disease virus – cooked and raw white rice as a vehicle. **Tropical Animal Health and Production**, v.1, p.2-10, 1993.

SANTOS, C.H.C. & SILVA, E.N. Métodos de diagnósticos laboratoriais microbiológicos e sorológicos. In: BERCHIERI Jr, A., MACARI, M. (Ed.). **Doenças das Aves**. FACTA, p.173-182, 2000.

SANTIAGO, S.L.T., MARTINS, N.R.S., RESENDE, J.S., JORGE, M.A. Resposta imune contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas. **Caderno técnico da Escola de Veterinária**. UFMG, n.27, p.5-14. 1999.

SAS/STAT. 1999. User's Guide. **SAS Institute** (Cary).

SCHAT, K.A, Current Progress on Avian Immunology Research. Proc. 6th Avian Immunology Research Group Meeting, Ithaca, NY Oct. 8-10, 2000. **American Association of Avian Pathologists**, Inc. p1-387, 2001.

SEAL. B., KING D.J., LOCKE D.P., SENNE D.A., JACKWOOD M.W. Phylogenetic relation ships among Highly virulent Newcastle disease virus isolated from exotic birds and poultry from 1989 to 1996. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, p.114-115, 1998.

SEAL, B.S., KING, D.J., SELLERS, H.S. The avian response to Newcastle disease virus, **Development and Comparative Immunology**. V.24, n.3, p.257-268, 2000.

SENNE, D.A.; PEARSON, J.E., MILLER, L.D., GUSTAFSON, G.A. Virus isolations from pet birds submitted for importation into the United States. **Avian Diseases**, v.27, p. 731-744, 1983.

SHARMA, J.M. The avian immune system. In: **Diseases of Poultry**, 11th Ed. Saif et al., eds. Iowa State Press. P.5-16, 2003.

SIMON, V.A. & ISHIZUKA, M.M. Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício- DIB. IN: Bercuieri Jr, A., MACARI, M. (Eds.). **Doenças das Aves**. Campinas: Facta, p.301-314, 2000.

SONAIYA, E.B., BRANCKAERT, R.D.S., GUEYE, E.F. Research and Development Options for Family Poultry. In: **The Scope and Effect of Family Poultry Research and Development**, International Network for Family Poultry Development-FAO, e-conferences, 1999.

SONAIYA, E.B. Issues in Family Poultry Development Research. Proceedings of a Internacional Workshop held on December 9-13, 1997, at M'Bour, Senegal. **Published by the Internacional Network for Family Poultry Development**, p. 308. 2000.

SONAIYA, E.B. Small Poultry Holdings, the Family and Community Development - Ethology, ETHICS and Self Interest. Proceedings of the 10th August 2001, Copenhagen International, **Conference of the Association of Institutions for Tropical Veterinary Medicine**, p.20-23, 2001.

SPRADBROW, P.B. Newcastle disease in village chickens. **Poultry Science Review**, v.5, p.57-96, 1994.

SPRADBROW, P.B. & SABINE, M. Australian studies on Newcastle disease vírus. The French heritage. **Veterinary Microbiology**, v 46, p.15-9, 1995.

SPRADBROW, P.B., SAMUEL, J.L., IBRAHIM, L. Serological response of chickens to oral vaccination with Newcastle disease virus. **Veterinary Microbiology**, v.16, p. 255-262, 1988.

TANAKA, A. & KIDA, H. Protective immune response of chickens against Newcastle disease induced by the intranasal vaccination with inactivated virus. **Veterinary Microbiology**, v.50, p.17-25, 1996.

THEKISOE, M.M.O., MBATI, P.A., BISSCHOP, S.P.R. Diseases of free ranging chickens in the Qwa-Qwa district of the northeastern free state province of South Africa. **Journal South African Veterinary Association**, v.74, n.1, p.14-16, 2003.

THEKISOE, M.M.O., MBATI, P.A., BISSCHOP, S.P.R. Different Approaches to the Vaccination of Free Ranging village chickens against Newcastle Disease in Qwa-Qwa, South Africa. **Veterinary Microbiology**, v.101, p. 23-30, 2004.

THRUSFIELD, M. (Ed.). Blackwell Scientific: London, **Veterinary Epidemiology**, 369p. 1995.

TIZARD, I. (Ed.). Roca: São Paulo. **Developments in biological standartion**. 395p, 1998.

TSIBANE, T. Country Report: South Africa. In: ALDERS, R.G. & SPRADBROW, P.B. **SADC Planning Workshop on Newcastle Disease Control in Village Chickens**. Proceedings of an International Workshop, Maputo, Mozambique, 6-9 March, ACIAR Proceedings. N° 103. p.110-114. 2000.

UDO, H.M.J., Relevance of farmyard animals to rural development, **Outlook and Annuals** (Organization for Economic Co-operation and Development – OECD). v.26 , p. 25- 28, 1997.

UDO, H.M.J., ASGEDOM, A.H., VIETS, T.C. Modelling the impact of interventions on the dynamics in village poultry systems. **Agricultural Systems**, v.88, n.2, p.255-269, 2006.

VERGER, M. La prophylaxie de la maladie de Newcastle dans les élevages villageois en Afrique. **L'aviculteur**, v.465, p.44-48, 1986.

VILLEGAS, P. Revisión de controles serológicos en avicultura. **Avicultura Profesional**, v.7, p.154-158, 1990.

VILLEGAS, P. & AVELLANEDA, G. Interpretacion de resultados serológicos em bronquitis infecciosa. **Avicultura Professional**, v.10, n.1, 1992.

WAMBURA, P. N., KAPAGA, A. M., HYERA, J. M. K. Experimental trials with a thermostable Newcastle disease vírus (strain I₂) in commercial and village chickens in Tanzania. **Preventive Veterinary Medicine**, v.43, p.75-83, 2000.

WILCOX G.E. Thermostable Newcastle disease vaccines in Tanzânia. **Veterinary Microbiology**, v.68, p.127-130, 1999.

WILSON, R.T., TRAORE, A., KUIT, H.G. & SLINGERLAND, M. "Livestock production in central Mali: Reproduction, growth and mortality of domestic fowl under traditional management". **Tropical Animal Health and Production**, v.19, p.229-236, 1987.

YODER Jr, H.W. Mycoplasmosis. In: CALNEK, B.W., BARNES, H.J., BEARD, C.W., REID, W.M., YODER JUNIOR, H.W. **Diseases of Poultry**. Ames:Iowa State University Press, p.197-235, 1997.

11.0 ANEXOS

ANEXO 1

ARTIGO 1

Soroprevalência do vírus da doença de Newcastle em “aves de criatórios fundo de quintal” da Região Metropolitana de Fortaleza, estado do Ceará, Brasil.

(Seroprevalence of Newcastle disease virus in domestic backyard poultry from Metropolitan Region of Fortaleza, Ceara State, Brazil)

* Artigo submetido ao Periódico Arquivos Brasileiro do Instituto Biológico dia 17/10/ 06

**SOROPREVALÊNCIA DO VÍRUS DA DOENÇA DE
NEWCASTLE EM AVES DE CRIATÓRIOS DE “FUNDO DE
QUINTAL” DA REGIÃO METROPOLITANA DE
FORTALEZA, ESTADO DO CEARÁ, BRASIL.**

(Seroprevalence of Newcastle disease virus in domestic backyard poultry
from Metropolitan Region of Fortaleza, Ceara State, Brazil)

S.R. Câmara,¹ W.M. Cardoso^{1*}, R.P.R. Salles², J.M. Romão¹, A.A. de Siqueira¹, F.A.C.
Sampaio¹, T.G.V. Moraes¹, R.S.C. Teixeira¹, e C.C. Campello¹

Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária,
Laboratório de Estudos Ornitológicos
Av. Paranjana, 1700, CEP: 60.740-903
Fortaleza, Ceará, Brasil
E-mail: ornito_uece@yahoo.com

*** Autor para correspondência**

William Maciel Cardoso
Av. Rogaciano Leite, 200, Aptº 1303, Bl. Tulipe, Bairro Salinas
CEP. 60.810-000 Fortaleza – Ceará, Brasil
Telefone: 85 3241 1307 ou 3101 9848 ou 9989 47 42
e-mail: william.maciел@uol.com.br, suianyrc@yahoo.com.br

1. Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará
2. Biolab - Laboratório de Patologia Aviária S. A.

RESUMO

O estudo foi conduzido com o objetivo de determinar prevalência e a frequência de distribuição dos títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (VDN) em aves de criatórios de “fundo de quintal” (AFQ) localizados na Região Metropolitana de Fortaleza (RMF). Foram obtidas 440 amostras de soros no período de outubro de 2005 a março de 2006 de AFQ, não vacinadas, oriundas de 44 criatórios dos municípios de Aquiraz, Caucaia, Eusébio, Horizonte, Maracanaú e Pacatuba. Um questionário foi aplicado com os proprietários com o intuito de avaliar a percepção dos proprietários em relação ao perfil sanitário de suas criações. A soroprevalência de anticorpos contra o VDN encontrada foi de 43,66%. Das amostras avaliadas 91,66% apresentaram títulos até $\log_2 5$ com somente 8,34% amostras com títulos variando entre $\log_2 6$ até $\log_2 9$. Dos criatórios avaliados 63,63% apresentaram títulos de anticorpos contra o VDN e apresentaram uma relação direta entre Histórico de doença respiratória e ocorrência de surtos com alta mortalidade. Anticorpos contra o VDN foram detectados em AFQ oriundas de todos os municípios analisados. Considerando esses resultados, o VDN pode ser uma das principais causas dos surtos ocorridos nos criatórios avaliados da RMF.

PALAVRAS CHAVES: Doença de Newcastle, aves fundo de quintal, anticorpos.

ABSTRACT

The study was conducted with the purpose of determine the prevalence and frequency of antibodies titres against the Newcastle Disease Virus (NDV) in domestic backyard poultry (DBP) located in the Metropolitan Region of Fortaleza (MRF). From October of 2005 to March of 2006, the amount of 440 sero samples were obtained from non-vaccinated DBP reared in 44 farms located in the districts of Aquiraz, Caucaia, Eusébio, Horizonte, Maracanaú and Pacatuba. A questionnaire was performed to evaluate the farmers' view on their farm's sanitary status. For the DBP studied, the overall seroprevalence of antibodies against NDV was of 43.66%. Regarding the processed samples, 91.66% presented titres with a maximum of $\log_2 5$. The other percentage of the samples (8.34%) presented titres ranging from $\log_2 6$ to $\log_2 9$. Considering the farms evaluated, 63.63% had titres of antibodies against the NDV as well as a direct relationship

to high mortality outbreaks and respiratory diseases backgrounds. Finally, antibodies against NDV were detected in DBP from every district evaluated. Regarding these results, it is safe to say that NDV can be one of the main causes of the outbreaks that occurred in the evaluated farms of the MRF.

KEY-WORDS: Newcastle disease, domestic backyard poultry, antibodies

INTRODUÇÃO

Aves de criatórios conhecidas como “aves de fundo de quintal” (AFQ) são aquelas galinhas do campo também chamadas de galinhas caipiras ou nativas criadas pelas populações rurais. A criação de AFQ apresenta grande importância nos âmbitos econômico, social e cultural (MINGA *et al.*, 2000), além de causar pouco impacto ao meio ambiente e necessitar de baixos investimentos (KITALYI, 1998).

No Brasil, a criação de AFQ é uma das atividades pecuárias mais tradicionais, existindo a mais de cinco séculos e tem destaque especial na Região do Semi-árido Nordeste. Em virtude da pobreza e falta de assistência à população rural dessa região, a criação desses animais desempenham importante função social, pois representam fonte protéica alimentar, fonte de renda com sua comercialização, além de ser a atividade pecuária de menor custo de implantação e manutenção (REGE & GINSON, 2003).

Alguns fatores, entretanto, são considerados limitantes a este sistema de criação tais como a alta mortalidade em virtude de doenças, a carência de assistência técnica especializada e os roubos freqüentes (THEKISOE *et al.*, 2004).

Pesquisas realizadas em países da África, Ásia e Austrália relatam a Doença de Newcastle (DN) como a maior causa de mortalidade em AFQ. Nos países Africanos estima-se que surtos anuais sejam responsáveis pela morte de 70-80% de aves não vacinadas (SPRADBROW, 1994).

O vírus da doença de Newcastle (VDN) acarreta danos à produção de AFQ e constitui uma limitação para o desenvolvimento desse sistema de produção (FACON *et al.*, 2005).

Nos três setores de produção de aves industriais, produção de matrizes ou reprodutoras, produção de ovos comerciais e de frango de corte, as aves recebem um rigoroso esquema de vacinação contra o VDN constitui vacina de uso freqüente em todo o

território brasileiro. Entretanto o segmento avícola representado pelos criadores de AFQ não dispõe de metodologia de prevenção da doença de Newcastle levam em conta os hábitos culturais do criador, as características do sistema de criação, a usual incorporação ao plantel de aves de condição sanitária não conhecida e o arraçoamento das aves (JORGE *et al.*, 1998). Na América do Sul, incluindo o Brasil, trabalhos relacionados à DN em aves silvestres e alternativas são escassos (OLIVEIRA JR, 2005). O controle da DN em AFQ além de acarretar benefícios a este sistema de criação, beneficiará também aves do setor industrial, pois estas aves podem representar uma constante fonte de infecção do vírus.

Devido à carência de trabalhos de soroepidemiologia relacionados à DN em AFQ e a frequência de surtos que matam praticamente todas as aves de uma pequena propriedade em poucos dias, resultou na necessidade da realização deste trabalho. Desse modo, este trabalho teve por objetivo determinar a prevalência e a curva de anticorpos contra o VDN em aves AFQ não vacinadas pertencentes a criatórios localizados na Região Metropolitana de Fortaleza.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA ESTUDADA

A Região Metropolitana de Fortaleza localiza-se no Norte do estado do Ceará em latitude de (3°, 44'-6°,01'/38°,23'-38°,57'), no território brasileiro. Os índices pluviométricos da mesma durante todo o ano variam entre 1.111-1.532 mm e a altitude não ultrapassa 14,23-68m (acima do nível do mar). Com uma população de 3.497.826, que representa 1/3 da População do Estado, esta região está distribuída em apenas 2,4% do território estadual (IBGE, 2005).

Foram amostrados 44 criatórios inseridos nos municípios de Aquiraz, Caucaia, Eusébio, Horizonte, Maracanaú e Pacatuba, todos pertencentes à Região Metropolitana de Fortaleza.

AVES

Foram utilizadas neste estudo aves de criatórios de “fundo de quintal”, de origem genética desconhecida, com idade superior a quatro semanas. As mesmas foram escolhidas de forma aleatória e eram submetidas a regimes extensivos ou semi-intensivos. Os criatórios apresentavam densidade e arraçoamento variáveis em função do poder aquisitivo dos proprietários e nunca haviam sido submetidas a nenhum tipo de vacinação.

COLETA DE SANGUE E ANÁLISE SOROLÓGICA

Foram amostradas 10 aves de cada criatório, das quais foi coletado sangue, obtendo-se 440 amostras no total. O sangue foi obtido através da venopunção aspirativa, retirando-se 3,0 mL/ave, da veia braquial. Três horas após a retração do coágulo, os soros foram separados, identificados, acondicionados em isopor com gelo biológico e remetidos ao Laboratório de Estudos Ornitológicos da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará permanecendo até a realização da prova sorológica.

Foi utilizado o teste de inibição da hemaglutinação (H.I.) para detecção de anticorpos séricos contra o VDN, proposto por BEARD & HANSON (1984), no qual a quantidade de vírus é mantida constante, enquanto o soro é diluído em série. O teste IH foi realizado em microplacas fundo em ‘v’ de 96 orifícios com diluição inicial de 1:2. O antígeno foi diluído em quatro unidades hemaglutinantes (UHA) e os títulos expressos em \log_2 .

QUESTIONÁRIO

Antes da realização das coletas de sangue, um questionário de múltipla escolha foi aplicado objetivando avaliar as ocorrências e/ou a frequência de surtos com enfermidades de alta mortalidade e as percepções dos proprietários quanto ao perfil sanitário de suas criações, com destaque para a doença de Newcastle.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises relativas à prevalência do VDN nos criatórios estudados foram executadas através do teste do Qui-quadrado. As médias foram consideradas significativamente diferentes com $p < 0,001$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A soroprevalência de AFQ com anticorpos contra o VDN dos criatórios da Região Metropolitana de Fortaleza no estado do Ceará foi de 43,66% e encontra-se na Tabela 1. Essa prevalência foi determinada pela divisão do número total de amostras soropositivas pelo número da amostragem total (THRUSFIELD, 1995).

Pesquisas realizadas por diversos autores, resultaram em percentuais de soroprevalência inferiores ao deste estudo. OLIVEIRA JR *et al.* (2003), avaliaram o perfil imunológico de aves caipiras e aves silvestres no estado do Rio de Janeiro, contra esse vírus, e encontraram uma percentagem 1,37%, enquanto que GUTIERREZ-RUIZ *et al.* (2000) encontraram prevalência de 2,2% para galinhas de “fundo de quintal” no estado de Yacatan, México. MCBRIDE *et al.* (1991) detectaram soroprevalência de 4% em “aves de fundo de quintal” no estado da Califórnia, USA, através do teste de ELISA. Um estudo realizado na província de Qwa-Qwa, na África do Sul, revelou que 5% das aves amostradas apresentaram anticorpos contra o VDN e os autores concluíram que a DN foi uma das principais enfermidades que acometeram as AFQ nessa província (THEKISOE *et al.*, 2003). A elevada presença de anticorpos específicos contra o VDN observada neste trabalho, em aves não vacinadas, pode ser um indicativo de desafio de campo nas aves estudadas, com cepas locais (CHRYSOSTOME *et al.*, 1995).

Tabela 1 - Criatórios e aves soropositivas para o vírus da doença de Newcastle oriundos da Região Metropolitana de Fortaleza

Municípios	Criatórios avaliados	Nº de criatórios soropositivos para VDN	Percentagem de aves soropositivas para o VDN
Aquiraz	7	2/7	27,15%
Caucaia	7	4/7	24,29%
Eusébio	7	4/7	42,86%
Horizonte	8	8/8	62,5%
Maracanaú	8	7/8	73,75%
Pacatuba	7	4/7	31,43%
Total	44	29/44	43,66%

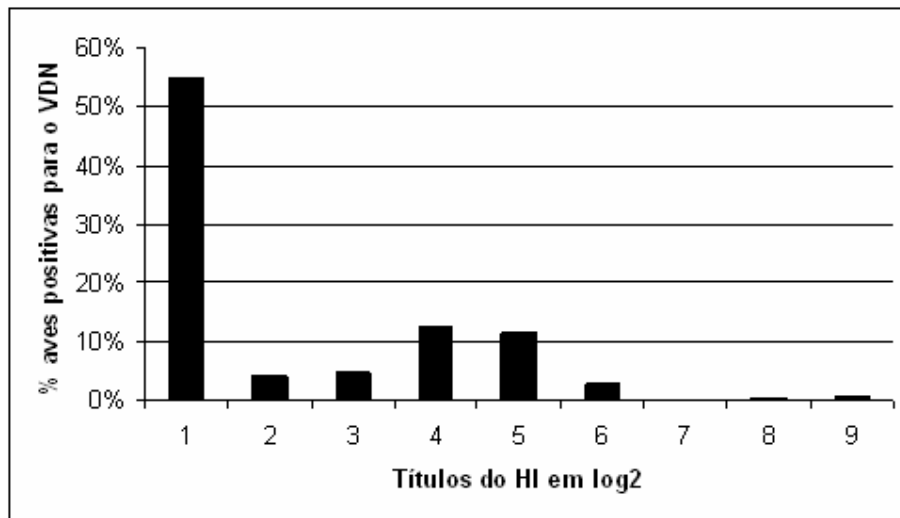
Nº = Número de criatórios, VDN= Vírus da Doença de Newcastle.

Tendo como base os trabalhos de CHRYSOSTOME *et al.*, (1995); GUTIERREZ-RUIZ *et al.*, (2000), esta pesquisa considerou como determinantes da soropositividade das galinhas, títulos iguais ou acima de $\log_2 1$.

A maioria das amostras avaliadas (91,66%) apresentou títulos menores e iguais a $\log_2 5$, no entanto apenas (8,34%) das amostras apresentaram títulos variando entre $\log_2 6$ e $\log_2 9$. Os títulos obtidos neste trabalho sugerem desafio com cepas lentogênicas e/ou mesogênicas. De acordo com CHRYSOSTOME *et al.*, (1995) as cepas velogênicas normalmente induzem títulos elevados quando comparadas às cepas lentogênicas, sendo esses iguais ou superiores a $\log_2 10$. Segundo PAULILLO & DORETTO JR (2002), o desafio com cepas velogênicas freqüentemente provoca índice de mortalidade em torno de 100% e a detecção de aves positivas só é possível durante a ocorrência de um surto. Os nossos resultados corroboram com os encontrados por SPRADBROW & SABINE, (1995) e podem ser justificados levando-se em consideração que, a maioria das viroses é de baixa virulência, todavia, a doença é de difícil reversão, para isso faz-se necessário à adoção de medidas que contribuam com a diminuição da incidência do vírus.

A freqüência de criatórios com galinhas positivas nos municípios de Horizonte e Maracanaú foi estatisticamente superior a freqüência de criatórios com aves positivas nos municípios de Aquiraz, Caucaia, Eusébio e Pacatuba avaliados pelo teste do Qui-quadrado com 0,1% de probabilidade. Os municípios de Horizonte e Maracanaú correspondem a regiões com alta densidade populacional de criatórios industriais. Desse modo, as aves pertencentes a estes municípios podem atuar como reservatório de vírus para a avicultura industrial (CAPUA *et al.*, 2000).

De um total de 44 criatórios 29 deles (63,63%) apresentaram títulos de anticorpos contra o VDN com histórico de doença respiratória e elevada mortalidade. Houve uma relação direta da presença de anticorpos para o VDN nas aves e histórico de doença respiratória.



VDN= Vírus da doença de Newcastle, IH= Teste de Inibição da Hemaglutinação, log₂= Logaritmo na base 2.

Figura 1 - Distribuição de títulos de anticorpos em “aves de fundo de quintal” não vacinadas provenientes da Região Metropolitana de Fortaleza.

Aproximadamente 56 % das amostras avaliadas não apresentaram títulos de anticorpos contra o VDN. Quando o VDN ou a DN acomete as aves, os títulos de anticorpos elevam-se entre 6 a 10 dias após a infecção e declinam lentamente, eventualmente retornando a zero (ALEXANDER, 1991). De acordo com CHRYSOSTOME *et al.*, (1995) as aves podem se tornar soronegativas decorrido um longo tempo de desafio viral. Assim sendo, a não detecção de anticorpos contra VDN, através do teste IH nas propriedades avaliadas, sugere que as aves dessas propriedades podem estar susceptíveis ao desafio pelo VDN de campo (ALLAN & GOUCH, 1974), o que justifica ainda mais a adoção de medidas imunoproláticas nesses locais (CHRYSOSTOME *et al.*, 1995).

A doença de Newcastle (DN) consiste em uma enfermidade de importância relevante e distribuição mundial (ALEXANDER, 1997) e a principal medida de controle em áreas epizooticas consiste na vacinação das aves (CHEN & WANG, 2002). Segundo CHRYSOSTOME *et al.*, (1995) os países que adotaram prática de vacinação apresentaram melhorias significativas no controle dessa doença. JOHNSTON *et al.*, (1992) avaliaram a eficácia das vacinações contra DN e concluíram que o retorno econômico foi de 65%. Resultados semelhantes foram observados na cidade de Berlim, Alemanha, onde a

vacinação promoveu uma proteção e um aumento da população de aves, a qual constitui uma significativa fonte para manutenção das mesmas (CHRYSOSTOME *et al.*, 1995).

Um total de 38 (86,36%) dos 44 proprietários entrevistados era desempregado ou pensionista e apresentavam baixos índices de escolaridade. Na maioria das propriedades (52,27%), a mulher era a principal responsável pela criação e manutenção desse sistema de criação. Esses resultados corroboram aos encontrados por UDO *et al.*, (2006), o qual relata que a mulher representa um papel de destaque na criação desses animais.

Em torno de 72% dos proprietários mencionaram que pelo menos uma vez nos últimos quatro anos perderam, praticamente, todas as suas aves em virtude de enfermidade em um período máximo de dois dias. Os principais sinais clínicos relatados eram respiratórios ou nervosos. Esses resultados diferem dos obtidos por GUTIERREZ-RUIZ *et al.*, (2000) em uma pesquisa de soroprevalência conduzida no município de Yacatan, México, onde os principais sinais observados foram respiratórios seguidos de entéricos. Somente 6,8% observaram esta sintomatologia em outras espécies de aves tais como patos ou perus. De acordo com JORDAN & PATTISON (1996) mais de 200 espécies de aves são susceptíveis as infecções naturais ou experimentais do VDN e acredita-se que algumas espécies são mais susceptíveis que outras.

A maioria dos entrevistados relatou que uma grande parte dos surtos ocorria no período do inverno, com maior intensidade entre os meses de março a maio. Segundo trabalho realizado por THEKISOE *et al.*, (2004) isto se deve ao estresse do período do inverno o qual debilita o sistema imune das aves, desse modo seria importante incluir os meses de inverno nos programas de vacinação com o intuito de preparar o sistema imune para a estação seguinte.

Todos os proprietários relataram que seus animais permaneciam soltos durante o dia e mantinham contato com aves silvestres. Investigações epidemiológicas têm alertado sobre o papel de aves selvagens em atuar como um potencial reservatório na transmissão do vírus de uma propriedade para outra durante surtos (THEKISOE *et al.*, 2003). As galinhas eram as aves domésticas preferidas quando comparadas a patos, perus, gansos ou galinha de guinea.

Um total de 77,27% dos entrevistados acredita que as práticas de vacinação promoveriam uma diminuição no índice de mortalidade em seus animais e 93,18% gostariam de utilizá-las em suas propriedades.

CONCLUSÕES

A pesquisa nos permite extrair as seguintes conclusões:

1. Quase a metade das amostras analisadas (43,66%) apresentou títulos de anticorpos contra o VDN.
2. Anticorpos contra o VDN foram detectados em AFQ oriundas de todos os municípios analisados da Região Metropolitana de Fortaleza.
3. Os altos índices de mortalidade de aves de criatórios de “fundos de quintal” nos municípios da Região Metropolitana de Fortaleza associados à alta prevalência de anticorpos contra o VDN, sugerem ser este um dos principais causadores dos surtos ocorridos na Região.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa (Funcap) pelo apoio financeiro.

Ao Laboratório BIOLAB S/C Ltda, Fortaleza, Ceará pelo auxílio nas provas sorológicas e ao Laboratório de Estudos Ornitológicos da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, W.H. & GOUCH, R.E. A standard hemagglutination inhibition test for Newcastle disease. *Veterinary Record*, v.95, p.147-149, 1974.

ALEXANDER, D.J. Newcastle disease and other paramyxovirus infectious. In: CALNEK, B.W. (Eds.). *Diseases of Poultry*. 9th. Ed. Ames: Iowa State University Press, 1991. p.537-557.

ALEXANDER, D.J. Newcastle disease and other paramyxoviridae infectious. In: Calnek, B.W. (Eds.). *Diseases of Poultry*. 10th. Ed. Mosby-Wolfe: London, 1997. p.541-569.

BEARD, C.W. & HANSON, R.P. Newcastle disease. In: Hofstad, M S.; Barnes, H.J.; Calnek, B.W.; Reid, W.M. *Diseases of Poultry*. 8th. Ed. Ames: Iowa State University Press, 1984, p.452-470.

CAPUA, I.; DALLA, POZZA. M.; MULTINELLI, F.; MARAGON, S.; TERREGINO, C. Newcastle disease outbreaks in Italy during 2000. *The Veterinary Record*, v.150, n.8, p.565-568, 2002.

CHEN, J. & WANG, C. Clinical epidemiologic and experimental evidence for the transmission of Newcastle disease virus through eggs. *Avian diseases*, v.46, p.461-465, 2002.

CHRYSOSTOME, C.A.A.M.; BELL, J.G.; DEMEY, F.; VERHULST, A. Seroprevalences to tree diseases in village chickens in Benin. *Preventive Veterinary Medicine*, v.22, p.257-261, 1995.

FACON, C.; GUERIN, J.L.; LACROIX, F. Assessment of Newcastle disease vaccination of houbara bustard breeders (*Chlamydotis undulate undulate*). *Journal of Wildlife Diseases*, v.41. n.4. p.768-774, 2005.

GUTIERREZ-RUIZ, E.J.; RAMIREZ-CRUZ, G.T.; CAMARA GAMBOA, E.I.; ALEXANDER, D.J.; GOUCH, R.E. A serological survey for avian infectious Bronchitis virus and Newcastle disease virus antibodies in backyard (free-range) village chickens in Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, v. 32. p.381-390, 2000.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Sistema IBGE de recuperação automática*. Disponível em: < <http://www.ibge.br/sidra> > Acesso em: 12 out. 2006.

JORGE, M.A.; MARTINS, N.R.S.; RESENDE, J.S.; ABREU, J.A.; LAZARINI, M.M. Vacinação de galinhas fundo de quintal contra a doença de Newcastle com vacina veiculada por milho. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.50. n.2 , p.123-126, 1998.

JOHNSTON, J.; FONTANILLA, B.; SILVANO, F. The economic impact of vaccination of village fowls: a case study from the Philipinnes. In: SPRADBROW, P.B. (Eds.). Newcastle Disease in Village chickens, Control with Termostable Oral Vaccines. *Australian Centre for International Agricultural Research*. Camberra, 1992.

JORDAN, F.T.W. & PATTISON, M. (Ed.). *Poultry Diseases*. Saunders: London, 1996. 336p.

KITALYI, A.J. Village chicken production systems in developing countries. What does the future hold? *World Animal Review*, v.89, p.48-53, 1998.

MCBRIDE, M.D.; HIRD, D.W.; CARPENTER, T.E.; SNIPES, K.P.; DANAYE-ELMI, C.; UTTERBACK, W.W. Health survey of backyard poultry and other avian species located within one mile of commercial California meat-turkey flocks. *Avian Diseases*. v.35, n.2, p.403-407, 2001.

MINGA, U.M.; MTAMBO, M.M.A.; KATULE, A.M.; MUTAYOBA, S.K.; MWALUSANYA, N.A.; LAWRENCE, P.; MDEGELA, R.H.; OLSEN, J.E. Improving the Health and Productivity of the Rural Chicken in África: Research and Development Efforts in Tanzania. In: ALDERS, R.G. & Spradbrow, P.B. *SADC Planning Workshop on Newcastle Disease Control in Village Chickens*. Proceedings of an International Workshop, Matupo, Mozambique, 6-9 March. ACIAR Proceedings n° 103, 2000. p.134-139.

OLIVEIRA JR, J.G.; PORTZ, C.; LOUREIRO, B.O.; SCHIAVO, P.A.; FEDULLO, L.P.L.; MAZUR, C.; ANDRADE, C.M. Vírus da doença de Newcastle em aves não vacinadas no Estado do Rio de Janeiro. *Ciência Rural*, v. 33, n.1, p.381-383, 2003.

OLIVEIRA JR, J.G.; SCHIHAVO, P.A.; DORETTO JR, L.; ORSI, M.A.; MAZUR, C.; ANDRADE, C.M. Isolamento e caracterização biológica da amostra JAP 999 do vírus da doença de Newcastle isolada de patos domésticos (*Neta sp*) no Rio de Janeiro. *Ciência Rural* v.35, n.4, p.948-951, 2005.

PAULILLO, A.C. & DORETTO JR, L. Doença de Newcastle. In: BERCHIERI JR, A. & MACARI, M. (Eds). *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 2002. p.267-282.

REGE, J.E.O. & GIBSON, J.P. Animal genetic resources and economic development: issues in relation to economic valuation. *Ecological Economics*. v. 45, p.319-330, 2003.

SPRADBROW, P.B. Newcastle disease in village chickens. *Poultry Science Review*, v.5, p.57-96, 1994.

SPRADBROW, P.B & SABINE, M. Australian studies on Newcastle disease virus. The French heritage. *Veterinary Microbiology*, v 46, p.15-9, 1995.

THEKISOE, M.M.O.; MBATI, P.A.; BISSCHOP, S.P.R. Diseases of free ranging chickens in the Qwa-Qwa district of the northeastern Free State province of South Africa. *Journal South African Veterinary Association*, v.74, n.1, p.14-16, 2003.

THEKISOE, M.M.O.; MBATI, P.A.; BISSCHOP, S.P.R.; THEKISOE, M.M.O. Different approaches to the vaccination of free ranging village chickens against Newcastle disease in Qwa-Qwa, South Africa. *Veterinary Microbiology*, v.101. p.23-30, 2004.

TIZARD, I. (Ed.). *Developments in biological standartion*. Roca: São Paulo. 1998. 395p.

THRUSFIELD, M. (Ed.). *Veterinary Epidemiology*. Blackwell Scientific: London, 1995. 369p.

UDO, H.M.J.; ASGEDOM, A.H.; VIETS, T.C. Modelling the impact of interventions on the dynamics in village poultry systems. *Agricultural Systems*, v.88, n.2, p.255-269, 2006.

ANEXO 2

ARTIGO 2

**Avaliação da resposta imune humoral através de diferentes
vias vacinais contra o vírus da Doença de Newcastle em “aves
de fundo de quintal”**

*(Humoral response evaluation through different vaccination approaches
against the Newcastle disease virus in domestic backyard poultry)*

ABSTRACT

The study was lead with the objective to compare the seroconversion domestic backyard poultry (DBP), young and adult, through three ways of vaccine administration against the Newcastle Disease Virus (NDV). A total of 135 DBP had been submitted to the three treatments which had differed in relation to the approaches from the administration used, being those: by eye-drop, by drinking water and by feed vaccination. Each treatment was represented by 40 birds (20 young and 20 adults) and a control group of 15 unvaccinated birds. The established vaccination program consisted of a first vaccination and two booster vaccination, using La Sota cepa. For young birds, the approaches by eye-drop and by drinking water had not presented significant statistical differences ($p < 0,05$) in the vaccinations responses evaluated at the 15, 45 and 140 days, differing, however of the headings gotten in the vaccinated birds in the feed vaccination ($p < 0,05$). In the adult birds, the vaccination by the eye-drop approaches presented superior statistic results than the drinking water approaches and to the feed approaches in the first response to the vaccination at the 15 days. At the 45 days, the results gotten for the drinking water approaches had inferior statistic results than those from the eye-drop approaches and to the 140 days it did not have significant difference in the three evaluated approaches ($p < 0,05$). In conclusion, the vaccination in the eye-drop approaches and drinking water approaches constitutes an efficient alternatives for vaccination of adult and young DBP, with intervals of new vaccinations esteem in three months.

INDEX TERMS: Newcastle, domestic backyard poultry, humoral immune response

RESUMO

O estudo foi conduzido com o objetivo de comparar a soroconversão de aves de criatórios de “fundo de quintal” (AFQ) jovens e adultas através de três vias de administração de vacinas contra o vírus da doença de Newcastle. Um total de 135 AFQ foram submetidas a três tratamentos os quais diferiram em relação à via de administração utilizada, sendo estas: via ocular, água de bebida e alimentar. Cada tratamento foi representado por 40 aves (20 jovens e 20 adultas) e um grupo controle de 15 aves não vacinadas. O programa de vacinação estabelecido constou de uma primovacinação e dois reforços dois reforços vacinais utilizando a cepa La Sota. Para aves jovens, as vias ocular e água de bebida não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) nas respostas as vacinações avaliadas aos 15, 45 e 140 dias entre, diferindo, entretanto dos títulos obtidos nas aves vacinadas pela via alimentar ($p < 0,05$). Nas aves adultas, a vacinação pela via ocular apresentou resultados estatisticamente superiores à via água de bebida e alimentar na primeira resposta à vacinação aos 15 dias. Aos 45 dias, os resultados obtidos pela via água de bebida foram estatisticamente inferiores aos obtidos pela via ocular e aos 140 dias não houve diferença significativa para as três vias avaliadas ($p < 0,05$). Diante dos resultados apresentados podemos concluir que a vacinação pelas vias ocular e água de bebida constituem alternativas eficazes para vacinação de “aves fundo de quintal” jovens e adultas, com intervalo de revacinações estimados de três a quatro meses após a primeira revacinação.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Newcastle, “aves fundo de quintal”, Resposta Imune Humoral

INTRODUÇÃO

Vários autores afirmam que a doença de Newcastle (DN) é um dos principais problemas sanitários que afetam a indústria avícola mundial em virtude das grandes perdas econômicas que ocasionam, dentre eles podemos citar: Paulillo & Doretto Jr, (2002), Biswas et al. (2005), Kapezynsky & King (2005). Pesquisas realizadas em países da África, Ásia e Austrália relatam a DN como a maior causa de mortalidade em “aves de criatórios de fundo de quintal” (AFQ). Segundo Spradbrow (1994), fazendo referência aos países africanos, estima-se que surtos anuais da DN sejam responsáveis pela mortalidade de 70-80% de aves não vacinadas. Já Facon et al. (2005) afirmam que o vírus da doença de Newcastle (VDN) acarreta danos à produção de AFQ e constitui uma limitação para a manutenção desses sistemas de produção.

Na avicultura industrial a DN é controlada com o emprego de vacinações contra o VDN, entretanto o segmento avícola brasileiro representado pelos criadores de AFQ não dispõem de metodologia de prevenção da doença que considere os hábitos culturais do criador, as características dos sistemas de criação, a usual incorporação ao plantel de aves com condição sanitária não conhecida e o arraçamento das mesmas (Jorge et al. 1998).

Diversas pesquisas realizadas em países Africanos e Australianos avaliam a eficácia de vacinação de para a DN em AFQ através das amostras V4 e I2 usando vias vacinais alternativas, mediante uma grande variedade de alimentos, e vias convencionais. Porém, essas amostras não estão disponíveis no mercado brasileiro.

Desse modo, este trabalho teve por objetivo comparar a soroconversão de “aves de criatórios de fundo de quintal” jovens e adultas através de três vias de administração de

vacinas com a cepa La Sota e estimar os intervalos de revacinações contra a doença de Newcastle.

MATERIAL E MÉTODOS

AVES

Foram utilizadas neste estudo 150 “aves de criatórios de fundo de quintal” (AFQ), de origem genética desconhecida e idades iniciais de cerca de três e seis meses para aves jovens e adultas, respectivamente, provenientes de criatórios particulares e feiras livres do município de Cascavel, situado a 52 KM da capital Fortaleza estado do Ceará, Brasil. Estas aves foram criadas em um regime semi-intensivo de criação com densidade inferior a uma ave por m² e foram alojadas em galpões experimentais em uma propriedade localizada no município de Pindoretama, situado a 45 KM de Fortaleza. Durante todo o período experimental as aves foram alimentadas com ração comercial, frutas, hortaliças, gramíneas e água *ad libitum*.

TRATAMENTOS

Um total de 135 AFQ foi submetido a três tratamentos os quais diferiram em relação à via de administração utilizada, sendo estas: via ocular, água de bebida e alimentar. As vias de administração (tratamentos) foram representadas por 40 aves, sendo 20 jovens (até três meses de idade) e 20 aves adultas (até seis meses de idade), identificadas individualmente com anilhas numeradas. Houve também um grupo controle (GC) de aves não vacinadas representado por 15 animais.

VIAS DE ADMINISTRAÇÃO

ÁGUA DE BEBIDA

Para vacinar as aves através da água de bebida foi adotado o protocolo proposto por Thekisoie et al. (2004), submeter às aves a um jejum hídrico de 14 horas antes da administração da vacina. A vacina foi preparada da seguinte forma: 1000 doses da vacina liofilizada foram diluídas em 1000 mL de água destilada. Após a dissolução, uma alíquota de 80 mL de solução vacinal foi rediluída em 240 mL de água destilada, adicionado leite em pó desnatado na proporção de 2g/mL de solução seguindo de imediata distribuição em bebedouros. Cada ave recebeu aproximadamente 8 mL de solução vacinal, conforme Alexander et al. (2004) resultando na administração média de duas doses por ave.

OCULAR

A vacina foi preparada no momento da vacinação onde 1000 doses da vacina liofilizada foram diluídas em 30 mL de diluente industrial. Cada ave recebeu duas gotas oculares correspondendo a 0,06 mL sendo em média duas doses por ave.

ALIMENTAR

Na noite anterior a vacinação, 2 kg de milho triturados, de boa qualidade e livre de impurezas passaram por um cozimento de 15' em 2 litros de água e permaneceram *overnight* até o momento da vacinação, conforme protocolo estabelecido por Thekisoie et al. (2004). Nos dias destinados às vacinações os animais não foram alimentados pela manhã com o intuito de provocar um jejum alimentar de 16 horas (Jorge et al. 1998). Conferi no artigo original e assim está da forma correta.

Para o preparo da vacina, 1000 doses foram diluídas em 1000 mL de água destilada. Uma alíquota de 80 mL da suspensão vacinal foi adicionada ao milho cozido e imediatamente após o preparo distribuído em comedouros resultando na administração em média de duas doses por ave, conforme protocolo proposto por Thekisoie et al. (2004).

PROGRAMA DE VACINAÇÃO E COLETAS DE SANGUE

As vacinas contra o VDN foram adquiridas no comércio especializado local, sendo as mesmas utilizadas na avicultura industrial compostas de cepa viva atenuada La Sota (título $10^{6.5}$). A fim de determinar a infectividade do vírus vacinal, as mesmas partidas utilizadas nas vacinações sofreram titulação em ovos embrionados de galinhas SPF. O programa de vacinação contra a DNC constou de uma primeira vacinação e dois reforços efetuados com 15 e outro com 90 dias. As coletas de sangue foram realizadas com 1, 15, 45, 105 e 140 dias, conforme Tabela 1.

Foram selecionadas aleatoriamente 10 aves jovens e 10 adultas de cada via de administração (tratamento) e 10 aves do grupo controle, sendo realizada uma sorologia pareada das mesmas aves nas cinco coletas realizadas.

Tabela 1 - Cronograma das coletas de sangue e vacinações

Vacinações (dias)	Coletas de Soro (dias)
OC/AB/AL	OC/AB/AL/CG
1	1
15	15
-	45
105	105
-	140

OC = Ocular, AB= Água de bebida, AL= Alimentar e GC= Grupo Controle

ANÁLISE SOROLÓGICA

O sangue foi obtido através da venopunção aspirativa, retirando-se 3,0 mL/ave, da veia braquial. Três horas após a retração do coágulo, os soros foram separados, identificados, acondicionados em isopor com gelo biológico e remetidos ao Laboratório de Estudos Ornitológicos da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará permanecendo até a realização da prova sorológica.

Foi utilizado o teste de inibição da hemaglutinação (IH) para detecção de anticorpos séricos contra o VDN, proposto por Beard e Hanson (1984), no qual a quantidade de vírus é mantida constante, enquanto o soro é diluído em série. O teste IH foi realizado em microplacas fundo em 'v' de 96 orifícios com diluição inicial de 1:2. O antígeno foi diluído em 4 unidades hemaglutinantes (UHA) e os títulos expressos em \log_2 .

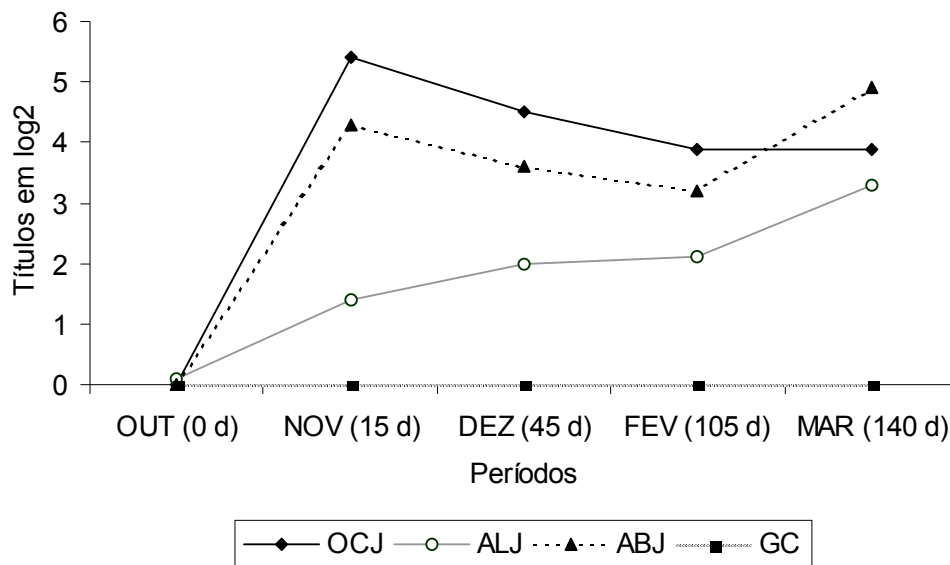
ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os títulos de IH obtidos das amostras de soro das aves foram transformados em títulos médios geométricos (GMT) em \log_2 e as médias foram calculadas por tratamento e via de administração utilizada. Nos casos em que foram atendidas as exigências para realização da análise de variância (ANOVA), esta foi executada por meio do procedimento GLM do programa SAS (1999) e as médias das variáveis respostas para cada tratamento experimental foram comparadas por meio do teste de Duncan, de acordo com os critérios estabelecidos por Sampaio (2002) de número de tratamentos testados e coeficiente de variação observado. As médias foram consideradas significativamente diferentes quando $p < 0,05$ e os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

AVES JOVENS

Em nosso estudo, não foram detectados anticorpos contra o VDN nas aves jovens antes da primovacinação para as três vias avaliadas e as aves pertencentes ao grupo controle apresentaram títulos negativos durante todos os meses avaliados, conforme demonstrados na Figura 1. Desse modo, a soroconversão anti-VDN das aves relacionou-se diretamente com a vacinação (Jorge et al. 1998).



OCJ = Ocular Jovem, ABJ= Água de bebida Jovem, ALJ= Alimentar Jovem e GC= Grupo Controle.

Fig.1. Títulos de anticorpos em log₂ das aves jovens vacinadas pelas vias ocular, água de bebida e alimentar.

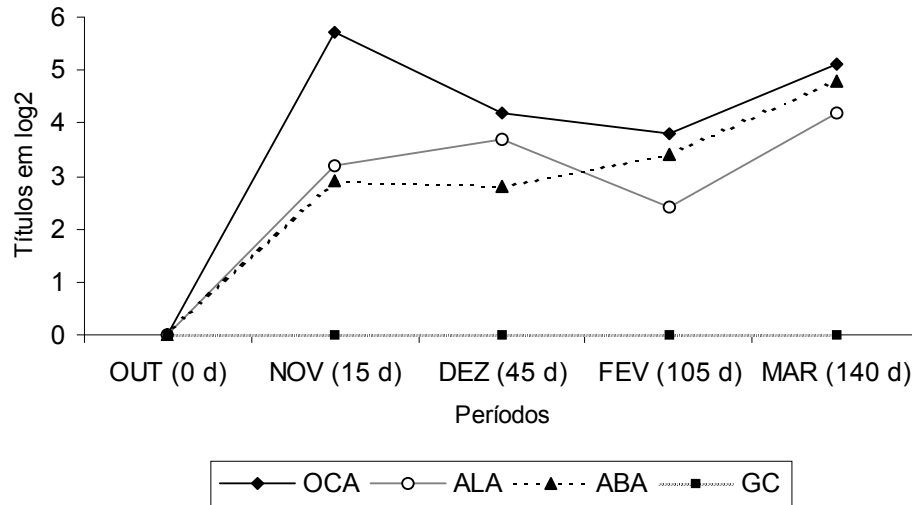
A cepa lentogênica La Sota é usada em diversos países do mundo e a extensa literatura envolvendo esta cepa reporta que ela é bem sucedida pelas vias ocular e água de bebida (Bacallao et al. 1998). Esses resultados corroboram aos encontrados em nosso estudo para as aves jovens vacinadas pelas vias ocular e água de bebida as quais não apresentaram diferenças estatísticas significativas durante todos os períodos avaliados ($p < 0,05$).

Nas respostas as vacinações avaliadas aos 15, 45 e 140 dias, não houveram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) nos títulos das aves jovens entre as vias ocular e água de bebida, diferindo, entretanto dos títulos obtidos nas aves vacinadas pela via alimentar ($p < 0,05$). Segundo Amakye-Anim et al. (1998) o processo de vacinação pelas vias ocular e água de bebida tem demonstrado resultados superiores

ao da via alimentar, alcançando proteção satisfatória através de uma dose usando cepas V4 e/ou I2 (Wilcox, 1999). Trabalhos realizados por Thekisoie et al. (2004) avaliando diferentes vias de administração de vacinas concluíram que os títulos médios de IH das aves vacinadas pela via alimentar foram significativamente mais baixos quando comparados as outras vias. Segundo o mesmo autor, alguns fatores podem ser atribuídos, dentre eles, é possível que a vacina não se dissolva bem quando misturada aos grãos, a via alimentar não faz parte das vias recomendadas pelos fabricantes da vacina e ainda, as aves não ingerem doses exatas quando a vacina é fornecida, sendo assim, aves adultas costumam ingerir uma quantidade superior como sinal de dominância intimidando as aves jovens.

AVES ADULTAS

A exemplo do que ocorreu nas aves jovens, anticorpos contra o VDN não foram detectados nas aves adultas antes da primovacinação para as três vias avaliadas. Aliado a esse fato, as três vias de administração de vacinas (ocular, água de bebida e alimentar) apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) na resposta dos títulos de IH quando comparadas com o grupo controle negativo, conforme Figura 2. Desse modo, as aves adultas vacinadas, por estarem desprovidas de sólida imunidade, teriam desenvolvido a infecção vacinal, resultando em ativa resposta sorológica (Jorge et al. 1998).



OCA = Ocular Adulto, ABA= Água de bebida Adulto, ALJ= Alimentar Adulto e GC= Grupo Controle.

Fig.2. Títulos em \log_2 das aves adultas vacinadas pelas vias ocular, água de bebida e alimentar.

Em nosso trabalho, as três vias de administração de vacinas elevaram os títulos de IH nas aves adultas após estímulo vacinal. Esses resultados, entretanto, discordam dos obtidos por Paulillo et al. (1987), onde afirmam que a resposta imune é improvável em aves velhas com níveis de anticorpos em queda e sistema imune maduro, e ainda por Jorge et al. (1998) onde a imunidade em aves velhas, com mais de um ano de idade, seria contida pela imunidade preexistente sem provocar reforço imunológico perceptível pelo teste de IH.

A vacinação pela via ocular nas aves adultas apresentou resultados estatisticamente superiores à via água de bebida e alimentar na primeira resposta à vacinação aos 15 dias. Aos 45 dias, os resultados obtidos pela via água de bebida foram estatisticamente inferiores aos obtidos pela via ocular e aos 140 dias não houve diferença significativa para as três vias avaliadas ($p < 0,05$). Resultados

semelhantes foram obtidos por Rehmani (1996), comparando a eficácia das cepas La Sota pelas vias ocular e água de bebida por 7 semanas, onde a vacinação pela via ocular apresentou melhores resultados nas semanas 3, 4, e 5, entretanto, houve um significativo decréscimo ($p < 0,05$) dos títulos médios de anticorpos nas semanas 6 e 7 para as duas vias avaliadas. Kapezynski & King (2005) constataram a resposta imune humoral conferida com uma única aplicação de vacina comercial B1 em aves vacinadas pelas vias ocular e água de bebida.

Decorridos três meses após o segundo estímulo vacinal, no mês de março, os títulos de anticorpos das aves que foram imunizadas pelas vias ocular e água de bebida não apresentaram diferenças estatísticas significativas, sendo diferentes, entretanto dos títulos oriundos de aves vacinadas pela via alimentar ($p < 0,05$). Assim como ocorrido nas aves jovem, a vacinação pela via alimentar provocou uma elevação tardia nos títulos de anticorpos. De acordo com Oakaley (2000), a eficácia de grãos na administração de vacinas é altamente variável. Resultados obtidos com os mesmos grãos nas condições sugeridas tem apresentado resultados divergentes Rushton (1995) e o número de aplicações de vacinas requeridas para alcançar bons níveis de proteção em aves também tem sido variáveis (Samuel et al. 1993).

Os títulos em \log_2 das aves jovens e adultas vacinadas através das três vias de administração demonstraram um decréscimo na terceira e quarta coletas. As aves foram revacinadas após a quarta coleta, em fevereiro, e houve um aumento na resposta dos títulos de IH nas três vias de administração. Segundo Palya (1998), o intervalo de revacinações para atingir um nível de proteção satisfatório em aves vacinadas através da via alimentar é variável, sendo necessárias seis a oito vacinações anuais. Entretanto, os resultados obtidos neste trabalho podem sugerir a necessidade de revacinações decorridos três a quatro meses após a primeira revacinação, o que harmoniza com

estudos realizados por Thekisoie et al. (2004) avaliando a eficácia da vacina nobilis Inkuku® em AFQ nas três vias de administração estudadas neste trabalho e Biswas et al. (2005) avaliando a eficácia de cepas lentogênicas pelas vias ocular e água de bebida em AFQ.

Diante dos resultados apresentados podemos concluir que a vacinação pelas vias ocular e água de bebida constituem alternativas eficazes para vacinação de “aves fundo de quintal” jovens e adultas, com intervalo de revacinações estimados após três meses.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa (Funcap) pelo apoio financeiro.

Ao Laboratório BIOLAB S/C Ltda, Fortaleza, Ceará pelo auxílio nas provas sorológicas e ao Laboratório de Estudos Ornitológicos da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará.

Ao Sr. João Bosco da Câmara e esposa, pela concessão da propriedade, aquisição dos animais e financiamento da ração durante todo o período experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexander D.J., Bell J.G. & Alders R.G. 2004. Thecnology Review: Newcastle Disease. Roma (FAO), 1-161.

Amakye-anim J., Alders R.G. & Spradbrow, P.B. 1998. Trials with V4 Newcastle disease vaccine in Ghana. In: Scientific Proceedings of the Fourth Asia Pacific Poultry Conference, Melbourne (Australia).

Bacallao A., Pilar H. & Viamontes O. 1988. Statistical evaluation of the results of IH test in broilers vaccinated against ND by aerosol or through drinking water. Rev. Cub. Cien. Avic. 15: 59-65.

Beard C.W. & Hanson R.P. 1984. Newcastle disease. In: Diseases of Poultry 8^a edição. Editores: Hofstad HJ, Barnes BW, Calnek WM, Reid HW. Yoder Eds (Iowa State University Press, Ames), 452-470.

Biswas P.K., Biswas D., Ahmed S. & Debnath N.C. 2005. A longitudinal study of the incidence of major endemic and epidemic diseases affecting semi-scavenging chickens reared under the Participatory Livestock Development Project areas in Bangladesh. Avian Pathol. 34: 303-312.

Facon C., Guerin J.L. & Lacroix F. 2005. Assessment of Newcastle disease vaccination of houbara bustard breeders (*Chlamydotis undulate undulate*). J. Wild. Dis. 41: 768-774.

Jorge M.A., Martins N.R.S., Resende J.S., Abreu J.A & Lazarini M.M. 1998. Vacinação de galinhas fundo de quintal contra a doença de Newcastle com vacina veiculada por milho. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 50: 123-126.

Kapezynsky A.R. & King D.J. 2005. Protection of chickens against overt clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccines upon challenge with highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle disease outbreak. Vacc. 23: 3424-3433.

Oakaley R.D. 2000. The limitations of a feed: water based heat-stable vaccine delivery system for Newcastle disease-control strategies for backyard poultry flocks in sub-Saharan Africa. Prev. Vet. Med. 47: 271-279.

Palya, V.J. 1998. Assistance for the control of Newcastle disease plane II. Consultance report on feed-besed Newcastle disease vaccine, 12-22. december 1998, FAO. Rome.

Paulillo A.C. & Doretto Jr L. 2002. Doença de Newcastle. In: Doenças das Aves, 2^a edição. Editores: Berchieri Jr A e Macari M. Campinas (FACTA), 267-282.

Paulillo A.C., Pinto A.A., Berchieri Jr A., Ariki J., Salcedo P.O., Kronka S.N., Richtzhein L.J., Nakaghi L.S.O. & Quintana J.L. 1987. Newcastle disease: immune response to live vaccine (La Sota strain) and inactivated vaccine (oil-based) in broiler chicks carrying maternal antibodies. *Ars. Vet.* 3: 235-242.

Rehmani S.F. 1996. Newcastle disease vaccination: A comparison of vaccines and routes of administration in Pakistan. *Prev. Vet. Med.* 25: 241-248.

Rushton J. 1995. Assistance to rural women in protecting their chicken flocks against Newcastle disease. Consultancy Report on Rural Poultry Production-Socio-Econom. Project TCP/RAF/2376, (Fao, Rome).

Sampaio I.B.M. 2002. Estatística aplicada à experimentação animal. 2ª edição. Belo Horizonte (Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia), 1-265.

Samuel J.L., Bensink Z. & Spradbrow P.B. 1993. Oral vaccination of chickens with the V4 strain of Newcastle disease virus – cooked and raw white rice as a vehicle. *Trop. Anim. Health. Prod.* 25: 2-10.

Sas/Stat. 1999. User's Guide. SAS Institute (Cary).

Spradbrow P.B. 1994. Newcastle disease in village chickens. *Poultry Science Review*, 5: 57-96.

Thekiso M.M.O., Mbatia P.A. & Bisschop S.P.R. 2004. Different approaches to the vaccination of free ranging village chickens against Newcastle disease in Qwa-Qwa, Sout. Afric. *Vet. Microb.* 10: 23-30.

Wilcox G.E. 1999. Thermostable Newcastle disease vaccines in Tanzania. *Vet. Microb.* 68: 127-130.

ANEXO 3

Questionário

QUESTIONÁRIO

1. Dados Gerais

- 1.1 Propriedade:.....
1.2 Proprietário:.....
1.3 Telefone:.....
1.4 Localidade:.....
1.5 Município:.....
1.6 Responsável pela coleta.....
1.7 Data da Coleta:.....
1.8 Número de soros coletados:.....

2. Dados referentes à propriedade:

2.1 Sistema de criação:

Extensivo () Semi-intensivo ()

2.2 Idade única () Idade múltipla ()

2.3 Espécie única () Diversas espécies ()

No caso de diversas espécies especificar.....

2.4 Qual a ave doméstica criada com predileção?

Galinha () Capote () Patos () Gansos () Perus ()

Pombos ()

Outros.....

2.5 As aves entram em contato com aves silvestres ?

Sim () Não ()

Em caso afirmativo especificar as espécies.....

2.6 Número aproximado de aves:

Até 25 aves () Mais de 25 aves ()

2.7 Estado geral das aves:

Apáticas () Aparência normal ()

Presença de Ectoparasitas: Sim () Não ()

Sinais Respiratórios: Descarga nasal () Ronqueira ()

Sinais Digestórios: Diarréia branca () Diarréia esverdeada ()

Sinais Nervosos: Paralisia das asas () Paralisia das patas () Torcicolo ()

Outros

sinais.....

2.8 Suplementação Alimentar:

Presente () Ausente ()

Em caso afirmativo especificar.....

2.9 Práticas de vacinações:

Utiliza frequentemente () Utiliza raramente () Nunca utilizou ()

2.10 Assistência veterinária:

Sim () Não ()

2.11 Surtos

2.11.1 Já houve na propriedade alguma doença que matasse praticamente todas as aves em poucos dias?

Sim () Não ()

2.11.2 Em quanto tempo a população era dizimada?

1 dia () 2 dias () 3 dias ()

2.11.3 Quais os principais sinais observados.

Respiratório: Descarga nasal () Ronqueira ()

Digestório: Diarréia branca () Diarréia esverdeada ()

Nervoso: Paralisia das asas () Paralisia das patas () Torcicolo ()

Outros

sinais.....

2.11.4 Em caso afirmativo da resposta anterior,

No último ano () Há mais de 1 ano () Nos últimos 4 anos () Há mais de 4 anos

2.11.5 Esta enfermidade foi observada também em outras espécies?

Sim () Não ()

Em caso afirmativo especificar.....

2.11.6 Qual(is) o(s) período(s) o surto é observado com mais frequência:

Inverno () Verão () Não observou ()

Em caso afirmativo, especificar meses.....

3.0 Dados referentes aos proprietários:

3.1 Escolaridade:

1º grau incompleto () 2º grau incompleto () 2º grau completo

3.2 Atividade:

desempregado () aposentado/ pensionista () sub emprego ()

3.3 Responsáveis pela criação:

Homem () Mulher () Homem/ Mulher () Filhos () Outros ()

3.4 Gostaria de ser visitado regularmente por veterinários e que suas aves fossem submetidas a vacinações?

Sim () Não ()

3.5 Acreditam que práticas de vacinação promoveriam uma diminuição na taxa de mortalidade de seus animais.

Sim () Não ()

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)