

## **Títulos de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle em três diferentes sistemas de criação avícola na região de Feira de Santana – Bahia**

*Antibody titers against Newcastle disease virus in three different poultry management systems located in Feira de Santana – Bahia*

SALES, Tatiane Santana<sup>1\*</sup>; HERVAL, Elen Fabiane Guimarães<sup>1</sup>; CÉSAR, André Eduardo Rocha<sup>1</sup>; RAMOS, Izabella<sup>2</sup>; BATINGA, Thaís Brito<sup>1</sup>; SILVA, Priscila Sousa da<sup>1</sup>; MAIA, Paulo César Costa<sup>3</sup>; FERNANDES, Lia<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Médico(a) Veterinário(a) – Pesquisador(a) do Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia da Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, UFBA, Salvador, Bahia, Brasil.

<sup>2</sup>Médica Veterinária – Vice-coordenadora do Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia – UFBA, Salvador, Bahia, Brasil.

<sup>3</sup>Médico veterinário – Professor do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador, Bahia, Brasil.

<sup>4</sup>Médica Veterinária - Coordenadora do Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia, Professora do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador, Bahia, Brasil.

\*Endereço para correspondência: santana@yahoo.com.br

### **RESUMO**

Amostras de soro foram coletadas de aves criadas em sistema de produção integrado, sistema independente e de galinhas de fundo de quintal, na região de Feira de Santana – Bahia, para avaliação dos títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle. Foram obtidas amostras de pintos de um dia, frangos de corte em idade de abate e galinhas de fundo de quintal com idades variando de quatro meses até três anos. Os soros foram analisados por meio de ELISA indireto, utilizando-se kit comercial. Os resultados obtidos demonstraram que os pintos de um dia apresentaram alto título de anticorpos maternos, provenientes das matrizes vacinadas, com coeficiente de variação de 33,03%. Os frangos de corte dos integrados e dos produtores independentes apresentaram um coeficiente de variação alto, respectivamente, de 99,07% e 97,07%, o que demonstra a não uniformidade nos títulos de anticorpos obtidos, devido à falta de uma boa cobertura vacinal contra o Vírus da Doença de Newcastle. Foi observada a ocorrência de títulos de anticorpos altos nas galinhas de fundo de quintal, com coeficiente de variação de 146,41%, indicando-se a ausência de cobertura vacinal das aves. Ficou demonstrado assim que os plantéis avícolas comerciais não apresentam boa cobertura vacinal, ficando susceptíveis a infecções com vírus de campo. Além disso, a presença de galinhas de fundo de quintal com títulos de anticorpos elevados sugere que as mesmas podem se tornar uma ameaça para aves de criação industrial.

Palavras-chave: ELISA, frangos de corte, galinhas caipiras

### **SUMMARY**

Serum samples were collected from poultry bred in integrated, independent and backyard production system, in Feira de Santana – Bahia, for evaluation of antibodies against Newcastle Disease virus. Samples were obtained from day-old chicks, slaughter poultry and backyard chickens ranging from four months to three years of age. Serum was analyzed by a commercial indirect ELISA. Results demonstrated that one day old chicks presented high antibodies titers with coefficient of variation of 33.03%, because their mothers were vaccinated. Poultry from integrated and independent producers presented higher variation coefficient, 99.07% and 97.01%, respectively, demonstrating no uniformity in titers, due to the lack of a good vaccinal response against Newcastle disease virus. The occurrence of high antibody titers was observed in backyard chickens, and coefficient of variation of 146.41%, demonstrating the lack of vaccinal response. This data suggest that the studied commercial poultry is not well immunised by vaccination. Moreover, the presence of backyard chickens with evidence of high antibodies titers, suggests that they can become a threat to industrial poultry.

Keywords: ELISA, backyard chickens, broilers

## INTRODUÇÃO

Para aceitação dos produtos no mercado internacional, a indústria avícola brasileira depende principalmente de rigorosos controles sanitários. Entre as exigências para a exportação, o controle da circulação do vírus da Doença de Newcastle no território nacional ocupa lugar de destaque e sua ocorrência no país acarretaria a suspensão imediata das exportações de produtos avícolas, com graves conseqüências para os dependentes do comércio internacional (SANTOS, 2007; OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2005).

A Doença de Newcastle é de notificação obrigatória à OIE e é causada pelo paramyxovírus aviário sorotipo 1 (APMV-1), que pertence à Ordem *Monomegavirales*, família *Paramyxoviridae*, subfamília *Paramyxovirinae* e gênero *Rubulavirus*. Esse vírus já foi encontrado em 241 espécies de pássaros, que correspondem a 27 das 50 Ordens de Classe Aves. (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2003; ALEXANDER, 1997; ALEXANDER, 1998).

O vírus da Doença de Newcastle (VDN) é formado por RNA de fita simples, envelopado e não segmentado. O envelope viral apresenta duas projeções glicoprotéicas típicas – a hemaglutinina-neuraminidase (HN) e a proteína de fusão (F), que recobrem toda a sua superfície, e são importantes para a identificação e comportamento do vírus, além de exercerem importante papel no desencadeamento da resposta imune protetora induzida pelo VDN, nas aves. (SANTOS et al., 1996; FOREIGN ANIMAL DISEASE, 1998; PAULILLO & DORETTO JÚNIOR, 2000).

As estirpes do VDN são agrupadas em cinco patótipos, com base na severidade dos sinais clínicos produzidos em aves infectadas. O patótipo entérico assintomático consiste em uma infecção entérica subclínica, o patótipo avirulento é

denominado lentogênico ou vacinal, o patótipo com virulência intermediária é conhecido como mesogênico e o patótipo altamente virulento é denominado velogênico. Esse último patótipo é subdividido em dois tipos: velogênico neurotrópico e velogênico viscerotrópico (HUANG et al., 2004; ALEXANDER, 1995; PAULILLO & DORETTO JÚNIOR, 2006).

A avaliação da resposta imune humoral é considerada um dos principais instrumentos para a avaliação dos procedimentos de imunização contra a DN. Essa resposta é determinada pela detecção dos anticorpos de classes diferentes de imunoglobulinas contra o VDN no soro e secreções, que podem ser facilmente mediadas por testes sorológicos rápidos e eficientes (AL-GARIB et al., 2003; SOUZA et al., 1999).

O estudo de perfis de imunidade por meio de levantamento sorológico é extremamente útil para avaliar as condições sanitárias de plantéis, definir a eficácia de programas de vacinação e gerar informações a respeito da circulação do vírus no ambiente (BRENTANO et al., 2000).

O ensaio imunoenzimático indireto (ELISA indireto) pode ser utilizado no processamento de um grande número de amostras de soro, além de ser cada vez mais aplicado nos programas de monitoramento sorológico de diferentes doenças virais na indústria avícola (RICHTZENHAIN et al., 1993; SOUZA et al., 2000).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de comparar os níveis de anticorpos específicos para o vírus da Doença de Newcastle em aves criadas em sistema de produção integrado, baseado na parceria entre o produtor e a empresa avícola, em sistema de produção independente, que corresponde aos criadores que utilizam recursos próprios para a criação e em galinhas de quintal, pela utilização da técnica de ELISA indireto, na região de maior concentração avícola do estado da

Bahia, sendo geradas informações que subsidiem os programas de prevenção e controle da DN na região.

## MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de soros foram coletadas em propriedades localizadas na região de Feira de Santana, e classificadas de acordo com o sistema de produção e idade, da seguinte maneira: foram analisadas 46 amostras provenientes de pintinhos de 01 dia de idade, não vacinados, derivados de

matrizes vacinadas, comercializados pelos incubatórios da região; 170 amostras de lotes de diferentes produtores de frangos de corte integrados de empresas avícolas, com idades variando entre 38 a 45 dias, vacinados contra a Doença de Newcastle ao 14<sup>o</sup> dia de vida; 52 amostras de frangos de corte de produtores independentes, com idades variando entre 41 a 49 dias e que foram vacinados contra a DN entre o oitavo e décimo quarto dia de vida e 75 amostras de galinhas de fundo de quintal, de linhagens variadas, com idade entre quatro meses a três anos que não foram vacinadas contra a DN (Tabela 1).

Tabela 1. Amostras de soros coletadas em propriedades localizadas na região de Feira de Santana – Bahia

Grupos	Nº de amostras	Idade das aves	Idade de aplicação da vacina
*Pintos de 1 dia	46	01 dia	-
Integrados	170	38 a 45 dias	14 <sup>o</sup>
Produtores independentes	52	41 a 49 dias	8 - 14 <sup>o</sup>
*Criações de galinha de fundo de quintal	75	4 meses a 3 anos	-

\* Pintos de 1 dia não vacinados e comercializados pelos incubatórios da região.

\* Criações de galinha de fundo de quintal que não foram vacinadas contra a Doença de Newcastle.

As análises foram realizadas no Laboratório de Sanidade Avícola (LASAB) da Escola de Medicina Veterinária da UFBA. Os soros foram testados através do ELISA indireto (IDEXX ©), utilizado para avaliação e monitoramento da resposta humoral. Os procedimentos do teste foram conduzidos segundo instruções do fabricante e os resultados foram calculados e interpretados através do programa xChek ®, que correlaciona a leitura das amostras à leitura dos controles e estabelece a concentração de anticorpos a partir dessa correlação. O programa valida o teste quando a diferença entre a média do controle positivo e a média do controle negativo é maior que

0,075 e a absorbância média do controle negativo é menor ou igual a 0,150.

A densidade óptica (OD) foi mensurada com absorbância de 650 nm de comprimento de onda.

## RESULTADOS

A avaliação sorológica de pintos de um dia revelou um coeficiente de variação de 33,03% com títulos variando de 2278 a 12497 (Tabela 2). A distribuição dos títulos das amostras apresentou o seguinte padrão: 15,22% abaixo de 5.000; 63,04% entre 5000 e 10.000; e 21,74% acima de 10.000.

Tabela 2. Títulos máximos e mínimos e coeficientes de variação encontrados para cada um dos grupos analisados

Grupos	Títulos (min. e max.)	CV (%)
Pintos de 1 dia	2278-12497	33, 03%
Integrados	174- 14413	99, 07%
Produtores independentes	103-4474	97, 01%
Criações de galinha de fundo de quintal	36-19302	146, 41%

Os resultados obtidos no ELISA indireto para frangos de corte dos integrados da indústria avícola demonstraram um coeficiente de variação de 99,07%, com títulos variando entre 174 e 14413, distribuídos da seguinte maneira: 32,35% das amostras com títulos até 1.000; 28,82% das amostras com títulos até 2.000; 31,18% das amostras com títulos até 5.000; 6,47% das amostras com títulos entre 5.000 e 10.000; 1,18% das amostras com títulos acima de 10.000.

Os frangos de corte de produtores independentes demonstraram um coeficiente de variação de 97,01% com

títulos variando de 103 a 4474, distribuídos da seguinte maneira: 59,62% das amostras com títulos até 1.000; 21,15% das amostras com títulos até 2.000; 19,23% das amostras com títulos até 5.000.

Os resultados obtidos para as galinhas de fundo de quintal apresentaram um coeficiente de variação de 146,41% com títulos variando de 36 a 19302, distribuídos da seguinte maneira: 49,33% das amostras com títulos até 1.000; 14,67% das amostras com títulos até 2.000; 24% das amostras com títulos até 5.000; 8% das amostras com títulos até 10.000; 4% das amostras com títulos acima de 10.000 (Figura 1).

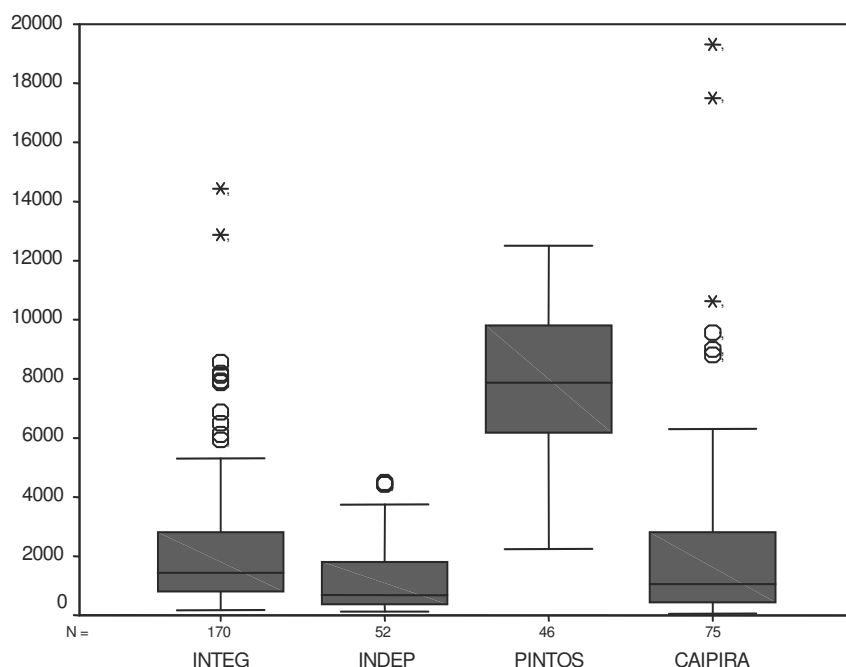


Figura 1: Representação gráfica da distribuição dos títulos de anticorpos contra o Vírus da Doença de Newcastle nos diferentes sistemas de produção avícola.

A titulação de anticorpos em pintos de um dia é utilizada para avaliar a transferência da imunidade materna e sua uniformidade (JAENISCH, 2005). Os títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle encontrados em pintos de um dia, comercializados na região de Feira de Santana, sugerem que a vacinação das matrizes está atingindo o objetivo esperado, uma vez que as mesmas passam por intensivo programa de vacinação visando proteger a progênie nos primeiros dias de vida (ROMERO et al., 1989; MÉSZÁROS et al., 1992; RIBEIRO et al., 2000). O coeficiente de variação, que mede a uniformidade dos títulos de anticorpos detectados, foi de 33, 03% (OPENGART, 2003; RISTOW, 2005).

Os resultados da análise de amostras provenientes de plantéis de frangos de corte de integrados da indústria avícola revelaram que não existe uniformidade nos títulos obtidos. Além disso, a distribuição de um terço das amostras analisadas no grupo de títulos de anticorpos abaixo de 1000 sugere que não existe boa cobertura vacinal. Essa suposição é reforçada pela ocorrência de títulos abaixo de 500, chegando até a 174. O coeficiente de variação observado nestes 99,07% é considerado ruim para lotes vacinados (RISTOW, 2005). Salle et al., 1999, em estudo visando o estabelecimento de critérios de interpretação de resultados sorológicos, afirmaram ser fundamental a análise do coeficiente de variação dos títulos do lote e sugerem que a ocorrência de não uniformidade pode indicar problemas no manejo de vacinação ou más condições de ambiência. A detecção de títulos acima de 5000 e de 10000 pode ser indicativa de desafio de campo, uma vez que o esperado é que os títulos caiam com o decorrer do tempo, desde que não haja revacinação, como é o caso dos lotes em questão. Romero et al. (1989), em estudo da ocorrência de anticorpos para vírus aviários em frangos de corte de intensa produção avícola, encontraram amostras com títulos altos para Doença de

Newcastle e aventaram a possibilidade de aves silvestres estarem introduzindo o vírus. Essa pode ser uma explicação para os resultados encontrados em nosso estudo. Os títulos de anticorpos encontrados nas amostras de plantéis de frangos de corte de produtores independentes apresentaram coeficiente de variação de 97,01%. A alta concentração de amostras com títulos abaixo de 2000 (cerca de 80%), sendo 60% de títulos localizados abaixo de 1000, sugere que os animais vacinados não dispõem de resposta humoral uniforme. Nos plantéis de criadores independentes analisados, no entanto, não foram encontrados títulos superiores a 5000. Esses dados sugerem que a dinâmica de alojamento e a frequência de trocas de camas podem interferir na pressão de desafio. Alexander, (2001), ressalta a importância de serem considerados todos os fatores que podem interferir em uma resposta imune de animais vacinados, não apenas os relacionados à aplicação da vacina, mas também os inerentes ao sistema imunológico das aves.

A avaliação da resposta humoral em galinhas de fundo de quintal pode ser extremamente útil na avaliação dos desafios de campo encontrados em uma região, uma vez que essas aves não são submetidas aos programas de vacinação utilizados pelos produtores de frangos de corte. As amostras analisadas revelaram um coeficiente de variação de 146, 41% com títulos variando de 36 a 19302. Do total de amostras analisadas, 49,3% apresentaram títulos abaixo de 1000, indicando que as aves não possuem cobertura vacinal ou não foram desafiadas pelo vírus. Esse dado corrobora as informações obtidas pelos criadores, que informaram não terem vacinado as aves. No entanto, a constatação de que 12% das amostras apresentaram títulos superiores a 5000 sugere que pode ter ocorrido recentemente contato com vírus da Doença de Newcastle, provavelmente, de baixa patogenicidade, uma vez que as aves não possuem sintomatologia clínica. Nossos

achados são semelhantes aos de Jorge et al., 2000, que apontam a cultura dos criadores, a multiplicidade dos criatórios, o manejo da criação, a incorporação de aves de condição sanitária desconhecida e a falta de atenção oficial para esse segmento como os responsáveis pela manutenção dessa situação, que não apenas compromete a subsistência dos pequenos produtores, mas, também, os transforma numa ameaça para a avicultura industrial.

## CONCLUSÕES

Os títulos elevados de anticorpos para DN em pintos de um dia revelam a transferência da imunidade passiva materna com boa uniformidade. Já, a ampla variação nos títulos de anticorpos para DN de frangos de corte criados pelos integrados e pelos produtores independentes indica que não está sendo alcançada uma proteção, como esperado, com o manejo de vacinação aplicado. O grupo de galinhas de fundo de quintal apresentou grande variação de títulos de anticorpos. A presença de títulos altos nos animais que não foram vacinados sugere o contato dessas aves com o vírus de campo. Sendo assim, os resultados demonstram que os plantéis avícolas comerciais não apresentam boa cobertura vacinal, ficando susceptíveis a infecções com vírus de campo. Essa ameaça se confirma pela presença de galinhas de fundo de quintal com títulos de anticorpos elevados.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, D. J. The epidemiology and control of avian influenza and Newcastle disease. **Journal Comp. Path.**, v.122, p.105-106, 1995.
- ALEXANDER, D. J. Newcastle disease and other Paramyxoviridae infections. In: CALNEK, B. W.; BARNES, H. J.; BEARD, C. W.; MCDUGALD, L. R.; SAIF, Y. M. (Eds) **Diseases of poultry**. 10. ed. Iowa: State University Press, 1997. p.541–569.
- ALEXANDER, D. J. Newcastle disease virus and other paramyxoviruses. In: SWAYNE, D. E.; GLISSON, J. R.; JACKWOOD, M. W.; PEARSON, J. E.; REED, W. M. (Eds) **A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens**. 4. ed. American: Association of Avian Pathologists, 1998. p. 156–163.
- ALEXANDER, D. J. Newcastle disease. **British Poultry Science**, v. 42, p.5-22, 2001.
- AL-GARIB, S. O.; GRUYS, E.; GIELKENS; A. L. J.; KOCH, G. Detection of antibody-forming cells directed against Newcastle disease virus and their immunoglobulin class by double immunoenzyme histochemistry. **Avian Diseases**, v. 47, n. 2, p. 453-457, 2003.
- BRENTANO, L.; SILVA, B. G.; SAYD, S.; FLORES, S. W. Anticorpos para o vírus da anemia das galinhas em matrizes de corte no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 2, p.157-179, 2000.
- FOREIGN ANIMAL DISEASES. **The gray book**, part IV – Velogenic newcastle disease, 1998. Disponível em: <<http://www.vet.uga.edu/>>. Acesso em: 19 ago. 2005.
- HUANG, Z.; PANDA, A.; ELANKUMARAN, S.; GOVINDARAJAN, D.; ROCKEMANN, D. D.; SAMAL, S. K. The hemagglutinin-neuraminidase protein of Newcastle disease virus determines tropism and virulence. **Journal of Virology**, v. 78, n.8, p. 4176-4184, 2004.

JAENISCH, F.R.F. Biossegurança na produção de frango no sistema agroecológico. **Embrapa Suínos e Aves**, Série de documentos n.086 – módulo 04, 2004. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/>>. Acesso em: 10 set. 2005.

JORGE, M. A.; MARTINS, N. R. S.; RESENDE, J. S. Método caseiro. **Avicultura Industrial**, n.1075, p. 20-21, 2000

MÉSZÁROS, J.; SZEMERÉDI, M.; TAMÁSI, G.; Immunization of day-old chickens against Newcastle disease. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 40, n.1-2, p. 121-127, 1992.

OLIVEIRA JÚNIOR, 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.2, p.381-383, 2003.

OLIVEIRA JÚNIOR, J. G.; SCHIAVO, P. A.; D. JÚNIOR, L.; ORSI, M. A.; MAZUR, C.; ANDRADE, C. M. Isolamento e caracterização biológica da amostra JAP99 do vírus da doença de Newcastle isolada de patos domésticos (*Neta sp*) no Rio de Janeiro. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 54-56, 2005.

OPENGART, K. Breeder vaccination programs. **Poultry Digest Online**, v.3, n.9, p.1-11, 2003.

PAULILLO, A. C.; DORETTO JÚNIOR, L. Doença de Newcastle. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doença das aves**. São Paulo: FACTA, 2000. p.267–276.

PAULILLO, A. C.; DORETTO JÚNIOR, L. Doença de newcastle. In: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: ROCA, 2006. p.168-181.

RIBEIRO, V. V.; SANTOS, B. M.; ALMEIDA, L. P. Distribuição geográfica e ocorrência da doença de Newcastle em Minas Gerais, matrizes de corte, 1988-98. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, p. 85, 2000.

RICHTZENHAIN, L. J.; PAULILLO, A. C.; PINTO, A. A.; KRONKA, S. N. Relation between the hemagglutination inhibition test and the indirect ELISA in the serologic monitoring of laying hens submitted to different systems of vaccination against Newcastle disease. **Revista de Microbiologia**, v.24, n.3, p.187-191, 1993.

RISTOW, L.E. **Considerações para interpretação de resultados sorológicos através da metodologia ELISA em avicultura**, 2004. Disponível em: <<http://www.tecsa.com.br/>>. Acesso em: 05 out. 2005.

ROMERO, C. H.; BRENTANO, L.; ROWE, C. A.; WENTZ, I.; FLORES, R. S.; RODRIGUES, J. C. Ocorrência de anticorpos para vírus aviários em frangos de corte em região de intensa produção avícola. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.9, n.1-2, p.1-7, 1989.

SALLE, C. T. P.; CÉ, M. C.; WALD, V. B.; SANTOS, C. H. C.; NASCIMENTO, V. P.; CANAL, C. W.; MORAES, H. L. S. Estabelecimento de critérios de interpretação de resultados sorológicos de matrizes de corte através de modelos matemáticos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.1, p.61-65, 1999.

SANTOS, B. M.; MARTINS, N. R. S.; RESENDE, M.; GOUVEIA, A. M. G. Resposta imune conferida pelas amostras La Sota e VG /GA do vírus da doença de Newcastle. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 48, n.6, p.645-656, 1996.

SANTOS, M. S. V. **Biossegurança em todos os níveis.** Disponível em: <<http://www.aviculturaindustrial.com.br>>. Acesso em: 09 set. 2007.

SOUZA, R. L. M.; CARDOSO, T. C.; PAULILLO, A. C.; MONTASSIER, H. J.; PINTO, A. A. Comparação entre as técnicas de ELISA indireto, ELISA com duplo anticorpos e inibição da hemaglutinação na detecção de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.1, p. 43-47, 1999.

SOUZA, R. L. M.; RODOVALHO, M. V.; GIANNONI, M. L.; MONTASSIER, H. J.; PINTO, A. A. Padronização e aplicação do método BFL-ELISA para a detecção de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle em emas e avestruzes. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, p.88, 2000.

Data de recebimento: 08/08/2007

Data de aprovação: 25/10/2007