

DOENÇA DE NEWCASTLE: REVISÃO DE LITERATURA

Eugênio Alves Pereira¹
Belchiolina Beatriz Fonseca²

Resumo

O Brasil ocupa a posição de terceiro maior produtor mundial de carne de frango e maior exportador do mundo. A doença de Newcastle (DN) é uma doença viral contagiosa que afeta diversas espécies de aves e, uma vez diagnosticada, pode gerar grandes impactos na produção avícola, afetando diretamente o mercado interno e as exportações. O objetivo deste trabalho é destacar a importância da DN na avicultura de produção considerando-se o interesse na manutenção do *status* livre no Brasil e o impacto direto frente aos mercados interno e externo. Um conjunto de ações preventivas é necessário para evitar a ocorrência de um foco de DN e garantir a manutenção do atual *status* do país como livre da DN.

Palavras-chave: Aves, Paramixovírus Aviário Tipo1, Saúde Animal

Abstract

Brazil occupies the position of third largest producer of chicken meat and largest exporter in the world. Newcastle disease (ND) is a contagious viral disease that affects several species of birds and, once diagnosed, can generate major impacts on poultry production, directly affecting the domestic market and exports. The objective of this work is to reinforce the importance of ND in poultry production, considering the interest in maintaining the free *status* in Brazil and the direct impact on domestic and foreign markets. A set of preventive actions is required to prevent the occurrence of a ND outbreak and ensure the maintenance of the country's current ND-free *status*.

Keywords: Birds, Avian Paramyxovirus Type1, Animal Health

Introdução

Em 2020, o Brasil produziu 13,845 milhões de toneladas de carne de frango, 4,53% de aumento na produção nacional em relação ao ano anterior. Do volume produzido, 69% permaneceu no mercado interno e 31% foi destinado à exportação que correspondeu a 4,321 milhões de toneladas de carne. Com estes índices o Brasil ocupa a posição de terceiro maior produtor mundial de carne de frango e o maior exportador do mundo (ABPA, 2021), o que reforça a importância de manter o *status* “livre” para as principais doenças que impactam nas exportações, dentre elas a doença de Newcastle (DN).

A DN é uma doença de notificação obrigatória à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e, segundo o Código Sanitário para os Animais Terrestres – OIE, consiste em uma doença viral contagiosa que afeta diversas espécies de aves além de répteis, mamíferos e até mesmo o homem (MAPA, 2021).

Embora descrita pela primeira vez na Ásia e logo a seguir confirmada na Inglaterra, na terceira década do século XX, a primeira descrição no Brasil data de 1953, com o isolamento viral realizado por Cunha e Silva em um surto verificado na cidade de Macapá (MELO et al., 2018).

Algumas aves podem manifestar sinais clínicos ao mesmo tempo que outras são portadoras e apenas disseminam o vírus de forma assintomática, estas, em especial os psitacídeos importados ilegalmente, acabam trazendo a DN para regiões livres da doença (ROVID-SPICKLER, 2016). Vale ressaltar que esta doença acomete mais da metade das ordens da classe das aves. Portanto, aves silvestres, exóticas e nativas também podem ser infectadas (OLIVEIRA JUNIOR, 2003).

Segundo Fernandes et al. (2010), essa enfermidade apresenta diferentes sinais clínicos entre as aves,

¹ Médico veterinário, pós-graduando em Ciências Avícolas na Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

² Professora adjunta I da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

os quais dependem de fatores como fator de virulência, espécie acometida, estado imunológico do animal infectado, bem como a predileção do vírus pelo sistema respiratório, digestório ou nervoso.

Os humanos também podem ser infectados pelo vírus da DN onde o sinal mais comum de infecção é a conjuntivite que se desenvolve até 24 horas após a exposição do vírus aos olhos (SWAINE; KING, 2003) e existem evidências de que amostras vacinais e amostras virais de campo podem infectar e causar sinais clínicos como dores de cabeça, lacrimejamento e edema de pálpebra, além de conjuntivite (ONO; LIA; RIBEIRO, 2021).

O objetivo deste trabalho é destacar a importância da DN na avicultura de produção considerando-se o interesse na manutenção do *status* livre no Brasil e o impacto direto frente aos mercados interno e externo.

1 Aspectos históricos

Apesar de existirem relatos de uma enfermidade com sinais clínicos semelhantes à DN, na Ásia e no Leste Europeu, em meados do século XIX, as primeiras descrições científicas foram feitas em 1926, em Java, Indonésia, por Kraneveld, e em 1928, em Newcastle-upon-Tyne, Inglaterra, por Doyle (DOYLE, 1935; LEITE et al., 2020).

Nos Estados Unidos, a descrição de ocorrência de uma doença respiratória associada a sinais nervosos, feita em 1930 por Beach e chamada de pneumoencefalite, foi posteriormente confirmada como DN (OLIVEIRA, 2019). De acordo ainda com Oliveira (2019), a disseminação mundial da DN tem como hipótese a de que amostras de baixa virulência tenham sido veiculadas por aves migratórias e a de que galinhas estariam infectadas, sem apresentar sinais clínicos. De acordo com essas postulações, modificações na forma de criação e nos hospedeiros, propiciaram a ocorrência de outras formas clínicas.

O surto de DN ocorrido na Venezuela entre 1949 e 1950, com alta mortalidade nos animais afetados, foi a primeira identificação da enfermidade na América do Sul. Neste mesmo ano, aves no México foram acometidas pela doença com amostra altamente virulenta, levando a mortalidade de 100% (BOURSCHEID, 2019).

Os primeiros relatos de DN em avestruzes foram feitos na década de 50, em animais mantidos em zoológicos. Os sinais observados nestes casos foram depressão geral e comprometimento do sistema nervoso central (LEITE et al., 2020).

No Brasil a primeira descrição foi efetuada em 1953, na cidade de Macapá, e os pesquisadores que relataram a ocorrência associaram a doença à importação de carne de frango congelada dos Estados Unidos. A partir desta data a enfermidade passou a ser verificada em várias regiões do país, sempre associada a perdas importantes para os avicultores (DORETTO JÚNIOR; PAULILLO, 2006).

Leite et al. (2020) consideram que três panzootias tenham ocorrido desde a primeira identificação da doença. A primeira panzootia estaria relacionada com os surtos iniciais da enfermidade, seria originária do Sudeste Asiático e teria levado 30 anos para se disseminar mundialmente, sendo ainda importante no início da década de 60. A segunda panzootia teria surgido no Oriente Médio no final da década de 70, alcançando a maioria dos países até 1973, se disseminando mais rapidamente graças à revolução da avicultura industrial e à comercialização de produtos avícolas. Afetando drasticamente a indústria avícola na maioria dos países, a enfermidade passou a ser controlada por meio de vacinas e fiscalização mais rigorosa na importação de aves exóticas. Apesar disso, pombos criados para corridas, demonstrações ou alimentação, principalmente na Europa, foram ignorados como fontes em potencial do vírus. Estas foram as aves afetadas primariamente na terceira panzootia, que atingiu o Oriente Médio no final da década de 70 e chegou à Europa em 1981, se espalhando para todas as partes do mundo (BOURSCHEID, 2019).

Samberg et al (1989) descreveram um surto em criação de avestruzes em Israel, e enfatizaram o risco decorrente da proximidade existente entre a propriedade afetada e criatórios comerciais de galinhas. Países do Sul da África enfrentaram uma epizootia de DN, entre 1993 e 1995. Várias espécies de aves domésticas foram acometidas e foram efetuados registros de casos em criações de avestruzes (ALLWRIGH, 1996).

A intensificação na comercialização internacional de avestruzes, verificada a partir da década de 90, suscitou apreensão nas autoridades sanitárias do mundo todo, levando a maioria dos países a criarem legislações específicas relacionadas ao tema. O fortalecimento da comercialização destes animais

justamente no momento em que ocorria uma epizootia na África pode ter favorecido a propagação da DN para vários países importadores. A preocupação com questões de âmbito sanitário culminou com a inclusão das avestruzes no grupo das aves de criação comercial. Assim, os estruticultores passaram a ter que atender às normas dos programas da avicultura industrial. Entretanto, as diferenças existentes entre avestruzes e galinhas acendem discussões e motivam proposições de revisão na legislação, para que as normas sejam específicas para comercialização destes animais (LEITE et al., 2020).

No Brasil, a importação de avestruzes infectadas com o vírus DN, em 1997, levou ao sacrifício de muitos animais e ao embargo das importações (DORETTO JÚNIOR; PAULILLO, 2006). A partir deste acontecimento, estruticultores nacionais se mobilizaram e o setor passou a participar do PNSA, filiando-se a União Brasileira de Avicultura (UBA). A fiscalização da atividade deixou de ser da competência do IBAMA, passando para o MAPA, em 2002 e as Normas para Criação de Avestruzes foram publicadas no ano seguinte, constando da Instrução Normativa número 2 (BOURSCHEID, 2019).

A DN continua sendo um grande desafio para a indústria avícola mundial, a despeito de todos os esforços feitos para sua erradicação. A utilização de vacinas vivas nas criações comerciais dificulta os estudos de distribuição da enfermidade. Como apenas a forma aguda da doença é notificada e registrada pela OIE e pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), os dados obtidos por estas organizações podem não representar a real ocorrência da enfermidade (LEITE et al., 2020).

A enfermidade continua sendo endêmica em muitos países da África (PFITZER et al, 2000), Ásia (HUA et al., 2005) e da América (KAPCZYNSKI; KING, 2005). No Brasil, apesar dos investimentos da indústria avícola na prevenção da DN, existem ameaças permanentes, uma vez que essas medidas ainda não alcançaram as pequenas criações de galinhas, que vem aumentando significativamente, como uma proposta para geração de renda em pequenas propriedades e assentamentos rurais. Programas oficiais de incentivo e financiamento para aquisição e distribuição de aves de fundo de quintal geralmente negligenciam o controle desta e de outras enfermidades aviárias importantes (JORGE; MARTINS; RESENDE, 2000; PINHEIRO et al., 2005).

Um estudo para avaliação de circulação dos vírus da DN e da IA em plantéis avícolas industriais foi realizado nos anos de 2015 e 2016, incluindo aproximadamente 41 mil granjas dentre frangos e perus de corte, galinhas poedeiras, reprodutoras de frangos e perus, anseriformes, avestruzes, codornas e outras espécies avícolas e concluiu que não havia circulação do vírus da DN nos plantéis amostrados que correspondeu a 95,5% do território nacional. (MAPA, 2016).

2 Características do Vírus da Doença de Newcastle

2.1 Etiologia e morfologia

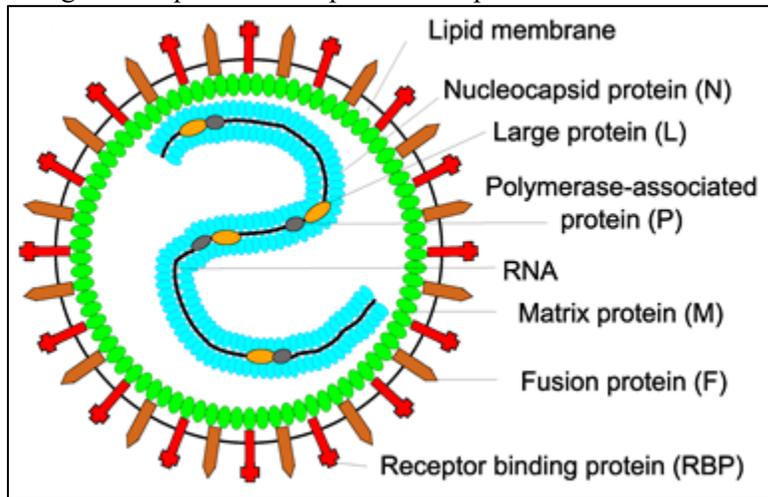
A doença é causada por cepas virulentas do paramixovírus aviário tipo 1 (APMV-1), gênero *Orthoavulavirus*, pertencente à subfamília Avulavirinae e família Paramyxoviridae (OIE, 2021).

Em 2019 o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus criou três gêneros denominados *Orthoavulavirus*, *Metaavulavirus* e *Paraavulavirus*, dentro de uma nova subfamília Avulavirinae da família Paramyxoviridae (ICTV, 2019). Os virions têm diâmetro entre 150 nm e 500 nm, são pleomórficos mas geralmente têm forma esférica e consistem de um nucleocapsídeo com simetria helicoidal constituído no RNA do genoma do vírus e na proteína do nucleocapsídeo (N) com um envelope lipídico que é derivado diretamente da membrana plasmática da célula hospedeira e contém duas glicoproteínas transmembranares, a proteína de fusão (F) e a proteína Hemaglutinina-Neuraminidase (RBP) (ICTV, 2019). Estas duas proteínas de membrana têm papéis bastante importantes na relação com o hospedeiro onde a proteína Hemaglutinina-Neuraminidase (HN) está envolvida na adsorção e liberação da célula alvo e a proteína de fusão, mediadora da fusão do envelope viral com as membranas da célula. A proteína F é sintetizada como um precursor, a F0, e só tem a capacidade de fusão após a clivagem em dois polipeptídeos: F1 e F2. Entretanto, além da clivagem de F0, ainda é fundamental a ação de HN para que ocorra a fusão (LEEUEW et al., 2005).

Internamente associada ao envelope encontra-se a proteína matriz (M) e o complexo ribonucleoproteína (RNP) que consiste no nucleocapsídeo juntamente com a fosfoproteína (P) associada a polimerase e a proteína grande (L). Internamente associada ao envelope encontra-se a proteína matriz (M).

O complexo ribonucleoproteína (RNP) consiste no nucleocapsídeo juntamente com a fosfoproteína (P) associada a polimerase e a proteína grande (L) (Figura 1) (ICTV, 2019).

Figura 1. Diagrama esquemático da partícula de paramixovírus em corte transversal.



Fonte:ICTV (2019)

A aplicação de técnicas de biologia molecular, por sua vez, tem possibilitado não apenas a identificação e caracterização das amostras do vírus, mas também tem sido uma ferramenta fundamental para a determinação da origem das amostras e da sua disseminação (LEITE et al., 2020).

Os Paramyxovirus são compostos por uma molécula de RNA fita simples com peso molecular de aproximadamente 5×10^6 daltons. O sequenciamento de nucleotídeos do genoma do vírus da Doença de Newcastle revelou que o mesmo consiste de 15.186 nucleotídeos (OIE, 2012).

A eletroforese em gel de poliácridamida (PAGE) revelou que a comparação dos polipeptídeos obtidos para Paramyxovirus aviários pode ser utilizada para identificação de sorogrupos (BARON et al., 2018).

A proteína HN desempenha papel importante na infecção viral. Esta proteína é responsável pelo reconhecimento dos receptores que contém ácido siálico na superfície da célula; pela promoção da fusão da proteína F, que possibilita a penetração do vírus e também pela remoção do ácido siálico das novas partículas virais, evitando que ocorra auto-aglutinação do vírus. A demonstração desta dependência confirmou a hipótese de que a virulência do vírus da DN é multigênica (HUANG et al., 2004).

De acordo com sua sequência genômica o vírus da DN é classificado em classe I e classe II onde os vírus da classe I são menos virulentos e têm circulação principalmente em aves selvagens e os vírus da classe II são mais prevalentes em aves domésticas. De acordo com um esquema de classificação recente baseado na sequência gênica de fusão completa (F) do vírus, o NDV classe I é agrupado em um único genótipo (genótipo I) com três subgenótipos, enquanto os vírus classe II são agrupados em pelo menos 20 genótipos (I a XXI), com exceção do genótipo XV que contém apenas vírus NDV recombinados. Destes genótipos de Classe II, os genótipos I, V, VI, VII, XII, XIII, XIV, XVIII e XXI são ainda divididos em subgenótipos (DIMITROV et al., 2019).

2.2 Replicação viral

O vírus da DN utiliza as proteínas por ele codificadas para transcrição e replicação de seu genoma, e utiliza proteínas do hospedeiro para translação, tradução e transporte. O início da replicação do vírus da DN se dá a partir da ligação do vírus aos receptores na célula-alvo, por meio da ação do polipeptídeo HN. A ligação da proteína HN ao receptor na célula-alvo (ácido siálico, CORNAX, et al, 2013) gera uma mudança conformacional, que têm como consequência a exposição da proteína de fusão na membrana da célula (BAPTISTA et al., 2021). A seguir, a proteína F promove a fusão da membrana do vírus com a

membrana da célula do hospedeiro, possibilitando a entrada do nucleocapsídeo. A replicação intracelular ocorre no citoplasma da célula invadida. A transcrição ocorre por meio da ação da polimerase (transcriptase), que produzirá moléculas capazes de atuarem com RNA mensageiros e utilizarem os mecanismos da própria célula para tradução das proteínas e do genoma viral. As proteínas sintetizadas em uma célula infectada são transportadas para a membrana celular, que se modifica. O alinhamento do nucleocapsídeo próximo a essas regiões modificadas culmina na liberação de novas partículas virais a partir da superfície da célula (ROVID-SPICKLER, 2016).

2.3 Patogenia

Os diferentes patótipos do vírus da DN também podem ser diferenciados por meio da sequência de aminoácidos que apresentam na região de clivagem do precursor da proteína de fusão (F0) para a formação das proteínas F1 e F2, ligadas por pontes dissulfeto (BAPTISTA et al., 2021). Essa fusão é um passo necessário para possibilitar a união do envelope viral à membrana do hospedeiro. A proteína F0 das amostras virulentas possui dois pares de aminoácidos básicos no sítio de clivagem, que podem ser rompidos por proteases do hospedeiro, encontradas na maioria dos tecidos (ROVID-SPICKLER, 2016). A proteína F0 das amostras não virulentas, por sua vez, possui dois únicos aminoácidos básicos no sítio de clivagem que só podem ser clivados em células que contenham enzimas semelhantes à tripsina (PHAM et al, 2005). Existem duas proteínas de clivagem importantes: a tripsina e a furina. A furina está em todas as células e a tripsina encontra-se mais em tecidos respiratório e digestório. A clivagem ocorre pela furina like (uma protease like-tripsina exclusiva) do hospedeiro presente no complexo de golgi em várias células. Os vírus de baixa virulência possuem sequências de aminoácidos que permitem ser clivados por outras tripsina-like presente no trato respiratório e no intestino (WANG et al., 2017). Estudos moleculares realizados em grande número de isolados do vírus da DN levaram a OIE a admitir que doença pode ser definida como uma infecção em aves causada pelo *Paramyxovirus* sorotipo 1 que possui múltiplos aminoácidos básicos (arginina ou lisina) na região terminal C da proteína F2 e o aminoácido fenilalanina no resíduo 117 (terminal N da proteína F1) (WILKS, 2002; BOMBASSARO et al., 2019; OIE, 2021).

Carvalho et al. (2021) relataram a ocorrência de replicação viral intensa no interior de macrófagos, com subsequente disseminação para vários órgãos, principalmente para o tecido linfóide, quando aves eram infectadas com amostras velogênicas. Partículas virais intactas foram observadas, por meio de microscopia eletrônica, em macrófagos exibindo padrões de apoptose e, apesar da capacidade de indução de apoptose e lise de várias células neoplásicas pelo vírus da DN ser objeto de estudo para terapia do câncer, existe um número limitado de estudos sobre a importância da apoptose na patogenia da DN em aves.

Kommers et al (2002) realizaram estudo visando determinar a relação entre a patogenia e a apresentação clínica de seis isolados do vírus da DN em galinhas. Aves foram inoculadas via intraconjuntival e, posteriormente, foram realizadas avaliações clínicas, necropsias com verificação das lesões macroscópicas, exames histopatológicos, imunohistoquímica para nucleoproteína, hibridização *in situ* e estudos de apoptose. Os resultados obtidos demonstraram que amostras de baixa virulência causam alterações microscópicas apenas no local da aplicação e no sistema respiratório.

Segundo Baptista et al. (2021), a detecção da nucleoproteína viral também só foi possível no local de aplicação do vírus. As amostras de alta virulência causaram lesões no cérebro, traquéia, além dos locais de aplicação e a nucleoproteína viral pôde ser recuperada de vários órgãos. Como as primeiras células a apresentarem proteína viral foram os macrófagos, considerou-se a importância do envolvimento dessas células na replicação e disseminação do vírus.

Além da definição da virulência de acordo com os aminoácidos básicos na região C terminal da proteína F2, as cepas virulentas são definidas também como aquelas que tem um índice de patogenicidade intracerebral de 0,7 ou superior, onde 2,0 é o máximo (OIE, 2021).

Vírus de pombos têm sido comumente referidos como paramixovírus de pombos ou PPMV-1 e são capazes de infectar galinhas e pombos domésticos ou selvagens (AFONSO, C. L., 2021). A identificação de um vírus derivado de pombo que é virulento para galinhas enfatiza a importância da caracterização biológica de tais isolados de vírus da DN (NOORUZZAMAN et al., 2021).

3 Epidemiologia

3.1 Hospedeiros

O vírus da DN pode infectar diversas espécies de aves domésticas como galinhas e perus, assim como aves ornamentais e silvestres (aproximadamente 236 espécies), porém os sinais clínicos e a gravidade da doença podem ser variáveis dentre as espécies (MAPA, 2013).

Além das espécies aviárias, a infecção pelo vírus da DN tem sido descrita também em outras espécies, incluindo répteis e o homem. Aparentemente a replicação do vírus nestes hospedeiros não tem importância epidemiológica para a ocorrência da doença em aves (FROZZA; BADO; CASELLES, 2020).

A susceptibilidade à enfermidade parece afetar todas as espécies de aves. O vírus já foi detectado em 27 das 50 ordens de aves existentes. Até o momento, 241 espécies aviárias tiveram registro de infecção pelo vírus, sendo observada ampla variação na apresentação de sinais clínicos. Foram realizados isolamentos do vírus em aves migratórias, em aves aquáticas, em aves silvestres, em aves criadas em gaiolas, em aves de competição e, obviamente, em aves de criação comercial, incluindo pombos e avestruzes (PIACENTI et al., 2006).

Além das galinhas criadas para subsistência, os reservatórios silvestres também são considerados importantes na manutenção do vírus circulante. Estudos de caracterização do vírus, realizados no Rio de Janeiro, alertaram para a importância da colaboração entre pesquisadores, com o propósito de viabilizar a implementação de um sistema integrado de vigilância, em consonância com o PNSA, incluindo o trabalho de esclarecimento sobre o controle da DN (OLIVEIRA JÚNIOR et al, 2005).

3.2 Transmissão

A transmissão da DN de ave para ave está associada à inalação ou ingestão de partículas virais. Apesar da via respiratória ser amplamente usada para a aplicação de vacinas, com resultados positivos comprovados, a disseminação da enfermidade por aerossol depende de condições ambientais favoráveis, tais como temperatura, umidade e concentração de aves. Existem questões ainda não respondidas a respeito da capacidade de partículas virais se manterem viáveis em aerossóis a ponto de gerar infecção, porém em casos onde o ambiente é favorável, como no surto de DN ocorrido na Irlanda do Norte em 1973, essa forma de disseminação foi comprovada (FÜNKLER, 2018).

Oliveira (2020) argumenta que nas pequenas criações de galinhas, a disseminação pelo ar é uma forma importante de manutenção do vírus na propriedade. Além disso, as formas mais brandas da doença podem ocorrer durante anos, sem que seja feita notificação.

A transmissão por meio da ingestão de partículas virais, no entanto, é facilmente demonstrada e acredita-se que o patótipo entérico assintomático seja transmitido apenas desta maneira (LEITE et al., 2020).

3.3 Disseminação

As aves silvestres são uma fonte importante do vírus da DN sendo demonstrado que elas podem contribuir com a disseminação de amostras que já estejam presentes em criações domésticas de determinada região (DEGEFA et al, 2004). A alta densidade em criatórios comerciais e a localização de plantéis em áreas de concentração de aves silvestres têm sido apontadas como responsáveis pelo aumento significativo da transmissão da enfermidade (STECANELLA et al., 2019).

A maioria das ocorrências de DN em plantéis comerciais de avestruzes descritas até o momento provavelmente tem sua origem em aves domésticas. Estudos de patogenicidade realizados em isolados da África do Sul e Botswana demonstraram, respectivamente, que as fontes de infecção eram galinhas e aves silvestres (STECANELLA et al., 2019). Amostras isoladas na Dinamarca e analisadas por técnicas moleculares sugeriram ter origem em outras espécies de aves domésticas (FÜNKLER, 2018). Não existem relatos até o momento de situações em que os avestruzes tenham introduzido o vírus, servindo como fonte de infecção para galinhas (LEITE et al., 2020).

Durante a ocorrência de surtos, no entanto, o principal agente de disseminação tem sido o homem.

Seu papel como difusor está associado à transferência de partículas do vírus de um local para outro, seja por meio de sapatos, de roupas, equipamentos e veículos (BOMBASSARO et al., 2019).

4 Aspectos clínicos e patológicos

O período de incubação e a manifestação clínica da doença com uma infecção por vírus da DN varia de três a seis dias (ALEXANDER e SENNE, 2008) e a doença pode levar a uma grande variedade de sinais clínicos dependendo da amostra do vírus, espécie do hospedeiro, idade, estado imunológico, interação com outros agentes infecciosos, estresse ambiental e social, forma de exposição e dose infectante (LEITE et al., 2020).

Nas aves há uma grande variação na patogenicidade das diferentes cepas de APMV-1 e foram agrupadas em cinco patótipos com base nos sinais clínicos observados em animais infectados: velogênica viscerotrópica que é altamente patogênica na qual frequentemente lesões intestinais hemorrágicas são observadas; velogênica neurotrópica, forma que apresenta alta mortalidade e, geralmente acompanhada de sinais nervosos e respiratórios; mesogênica que apresenta baixa mortalidade, sinais respiratórios e ocasionalmente sinais nervosos; lentogênica ou respiratória, que apresenta infecção respiratória leve ou subclínica; e subclínica que consiste usualmente em uma infecção entérica subclínica (OIE, 2021).

Em galinhas, as amostras altamente virulentas são classificadas de acordo com o período de incubação e o tropismo. A forma velogênica viscerotrópica está associada a altos índices de mortalidade, apatia, debilidade, diarreia esverdeada e aquosa, edema de cabeça e pescoço e prostração. A forma velogênica neurotrópica causa morte em grande número de aves do lote, precedida de sinais respiratórios como tosse, espirros, dispnéia, respiração acelerada, descarga nasal e ocular, seguida da manifestação de sinais nervosos como queda de asas, arrastamento de pernas, depressão, torcicolo, opistótono, tremores musculares, convulsões e tremores (VIANNA et al., 2000).

A forma mais branda da doença em galinhas, causadas por amostras classificadas como mesogênicas, é caracterizada por respiração acelerada, dispnéia e presença de secreção respiratória, podendo estar associada também, em algumas situações, pelo comprometimento do sistema nervoso central (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2005).

Em galinhas, as lesões macroscópicas frequentemente observadas no trato respiratório são edema da cabeça, presença de secreção nos seios nasais e na região do tecido intersticial da traquéia. Podem ser visualizadas hemorragias e ulcerações na laringe e descamação do epitélio traqueal. O espessamento dos sacos aéreos pode ser observado principalmente quando existe associação com agentes secundários como *Mycoplasma sp* (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2005). No trato digestório, podem ser encontradas hemorragias petequiais e equimoses na mucosa do proventrículo e do intestino. Pode ocorrer também peritonite sero-fibrinosa e petequial (LEITE et al., 2020). Frequentemente são observadas hemorragias no coração e aumento do volume do pericárdio, levando a uma severa pericardite e peri-hepatite com exsudato fibrinoso. No sistema reprodutivo pode ser observada a degeneração e flacidez dos folículos ovarianos (BOMBASSARO et al., 2019).

5 Imunidade na Doença de Newcastle

A resposta imune inicial à infecção pelo vírus da DN é mediada por células e detectável entre dois a três dias após a inoculação de vacinas vivas (GHUMMAN et al, 1976). No entanto, demonstrou-se posteriormente que a resposta celular isoladamente não era capaz de conferir proteção contra a infecção pelo vírus da DN. O papel da imunidade celular na proteção contra a DN foi investigado por meio de estratégias onde a resposta mediada pelas células de defesa foi avaliada sem interferência da resposta humoral. Os resultados obtidos demonstraram que a resposta celular específica contra o vírus da DN por si só não é suficiente. A presença de anticorpos neutralizadores do vírus ou inibidores da hemaglutinação é necessária para gerar proteção contra a doença (REYNOLDS ; MARAQA, 2000).

Anticorpos capazes de proteger contra a infecção pelo vírus da DN têm sido medidos nos testes de vírus-neutralização (VN). Anticorpos direcionados contra os glicopeptídeos de superfície hemaglutinina e neuraminidase e também à proteína F, podem neutralizar o vírus da DN. Anticorpos monoclonais específicos para os epítomos da proteína F têm sido capazes de induzir maior neutralização do que os

dirigidos contra HN em testes *in vitro* e *in vivo*. Os títulos de anticorpos dependem da amostra infectante, mas geralmente o pico da resposta humoral é alcançado dentro de três a quatro semanas. Anticorpos inibidores da hemaglutinação podem ser detectados por até um ano depois da exposição em aves acometidas pela forma mesogênica ou após uma série de imunizações (BOMBASSARO et al., 2019).

Anticorpos contra o vírus da DN têm sido encontrados nas secreções respiratórias e intestinais, sendo IgG e IgA as principais imunoglobulinas identificadas. Apesar da imunidade local não ter ainda sua forma de atuação totalmente esclarecida, no caso de infecção pelo vírus da DN, experimentos com inoculação viral em sítios diferentes, demonstraram sua eficácia protetora (MARTINS; ECCO, 2015).

6 Vacinação contra Doença de Newcastle

Os programas de vacinação aplicados a plantéis comerciais são geralmente regulamentados pelos planos nacionais de defesa sanitária animal e planejados diante da avaliação da situação da doença no país. A avaliação de fatores como imunidade passiva materna; persistência de imunidade; via de aplicação; estado nutricional das aves; interferência de outros agentes infecciosos; tamanho dos lotes; condições climáticas; histórico e custo da vacinação é essencial para que seja organizado um programa de vacinação. Sendo assim, o plano de vacinação deve se adequar às diferentes situações de desafio sanitário em determinada região, além de ser específico para cada situação e maleável para atender às demandas existentes durante o período de produção. Diante de todas essas variáveis, é inviável a aplicação de um programa de vacinação que seja capaz de atender de maneira geral às diferentes situações de desafios de campo (JAENISCH, 2003). As cepas do vírus da DN de baixa virulência de ocorrência natural, como LaSota e B1, são amplamente utilizadas como vacinas vivas atenuadas (KIM e SAMAL, 2016).

Existem no mercado vacinas vivas e vacinas inativadas, indicadas para utilização em situações distintas, apresentando vantagens e desvantagens que devem ser ponderadas antes de sua aplicação. As vacinas vivas podem ser produzidas a partir de estirpes lentogênicas com variações de patogenicidade. Obviamente, assim como a resposta imune aumenta com a aplicação de vacinas com estirpes mais patogênicas, aumenta também o risco de reações vacinais mais severas (SWAYNE; KING, 2003).

Assim, para obter bom nível de proteção minimizando o impacto sobre as aves, os programas geralmente se baseiam no uso sequencial progressivo de vacinas com vírus cada vez mais patogênico, ou vacinas vivas seguidas de vacinas inativadas. Vacinas inativadas são utilizadas principalmente em matrizeiros, para garantir a transferência de imunidade das reprodutoras para a progênie, e em criatórios de poedeiras comerciais, que também são aves de ciclo longo. Essas vacinas têm como principal desvantagem a necessidade de aplicação por meio de aplicação subcutânea ou intramuscular (LEITE et al., 2020).

A vacinação de galinhas em criações para subsistência tem sido objeto de estudo. A utilização de vacinas termoestáveis, aplicadas por via ocular, tem demonstrado resultados positivos, e parece ser uma alternativa viável em regiões onde a manutenção da vacina refrigerada é complicada (BAPTISTA et al., 2021).

Estudos demonstram o potencial do vírus da DN como vetor de vacinas (NAKAYA et al., 2001) pois, além da resposta imune de mucosa, induzem respostas imunes humorais e celulares robustas, resultando em um histórico comprovado de segurança e eficácia (KIM e SAMAL, 2016).

Palya et al (2012) avaliaram a segurança da vacina recombinante (Herpesvirus de peru expressando glicoproteína F do vírus da DN) em grupos de frangos de corte vacinados *in ovo* ou via subcutânea e desafiados aos 20, 27 e 40 dias com uma cepa de vírus DN velogênica viscerotrópica. De acordo com o avanço na idade das aves houve diminuição constante na excreção do vírus no grupo vacinado enquanto que o grupo controle não vacinado permaneceu excretando o vírus de forma significativa e se mostrou totalmente susceptível.

7 Diagnóstico

Existem uma variedade de testes utilizados para a detecção de anticorpos para o vírus da DN nas aves. Para se realizar o diagnóstico sorológico são realizados os testes baseados em neutralização ou reações de ELISA, no entanto, o teste mais utilizado no mundo atualmente é o Teste de Inibição da Hemaglutinação

(HI), inclusive sendo o mesmo reconhecido por órgãos internacionais (MATTOS, 2013).

O diagnóstico laboratorial da DN é essencial para dar suporte na decisão de imposição de medidas de controle a serem tomadas diante da suspeita de surto. Uma vez que os sinais clínicos e as lesões causadas pela infecção não são patognomônicos, e diante da variação de amostras e hospedeiros, a realização de provas laboratoriais é fundamental para confirmação da ocorrência da doença e para determinação da patogenicidade da amostra (BOMBASSARO et al., 2019). Outras doenças como IA de alta patogenicidade, laringotraqueíte infecciosa e micoplasmose devem ser consideradas como diagnóstico diferencial (ALEXANDER e SENNE, 2008).

A detecção direta do vírus pode ser efetuada por imunohistoquímica, imunoperoxidase e hibridização “in situ”. O isolamento e identificação do vírus são considerados métodos de diagnóstico definitivo (LEITE et al., 2020).

O agrupamento de isolados de acordo com a virulência e com as características epidemiológicas das amostras tem sido empregado amplamente em caso de surtos. Entretanto, apesar dos testes de patogenicidade serem capazes de definir a virulência de um isolado, não possibilitam identificar as relações biológicas e epidemiológicas de amostras com a mesma virulência. Desta forma, painéis de anticorpos monoclonais produzidos contra amostras do vírus da DN passaram a ser utilizados para associar os isolados de acordo com suas capacidades biológicas e epidemiológicas (LEITE et al., 2020). Anticorpos monoclonais são capazes de distinguir pequenas variações na antigenicidade, por meio do reconhecimento da mudança na sequência de aminoácidos que gera alteração nos epítomos contra os quais são dirigidos. Assim, eles permitem a detecção de diferenças entre amostras e até mesmo dentro de uma mesma subpopulação (OLIVEIRA, 2019).

7.1 Isolamento e Caracterização Viral

Os métodos tradicionais de detecção e diferenciação do vírus da DN são baseados no isolamento viral usando ovos embrionados de galinha, seguidos de testes “in vivo” para a determinação da patogenicidade. Os testes usados rotineiramente para a definição dos patótipos são: Índice de Patogenicidade Intracerebral (IPIC) em pintos de um dia, Índice de Patogenicidade Intravenoso (IPIV), em aves com seis semanas de idade e Tempo Médio de Morte Embrionária (TMME), em embriões de galinhas (MELO et al., 2018).

Apesar do vírus da DN se propagar em muitos sistemas de cultura de células, a utilização de ovos embrionados de galinha é praticamente universal, para a realização do isolamento viral. Ovos embrionados livres de agentes específicos (SPF) com 9 a 11 dias de incubação são inoculados na cavidade alantóica com o material suspeito tratado com antibióticos. Os ovos são incubados e a morte dos embriões é verificada a cada 12 horas. Ovos com embriões mortos têm seu fluido cório-alantóico coletado e procede-se ao teste da atividade hemaglutinante. Em caso de reação positiva, realiza-se a prova de inibição da hemaglutinação com soro positivo padrão para determinação da especificidade. Se o vírus da DN é encontrado, a identificação do isolado pode ser efetuada por meio da técnica de neutralização viral e a caracterização obtida por meio de testes de patogenicidade, inoculando aves susceptíveis ou ovos embrionados (CUNNINGHAM, 1966; HANSON, 1980; LEITE et al., 2020).

7.2 Técnicas moleculares

As técnicas moleculares possibilitaram um grande avanço na caracterização dos patótipos das amostras do vírus da DN, destacando-se a hibridização de ácidos nucleicos, análise de RNA genômico viral e o uso de anticorpos antipeptídeos de regiões HN (hemaglutinina-neuraminidase) e F (proteínas de fusão) (BAPTISTA et al., 2021).

Vários tipos de PCR, incluindo PCR-RFLP e PCR convencional com hibridização com sondas de oligonucleotídeos, têm sido desenvolvidos nos últimos anos para diagnóstico da DN (ALDOUS et al., 2001). O PCR com hibridização é o que apresenta maior sensibilidade, porém a mutação em sítios reconhecidos pelas sondas pode gerar falsos negativos, criando a necessidade da utilização de várias sondas e tornando o teste mais trabalhoso e caro (ALI; REINOLDS, 2000). Pham et al (2005) desenvolveram PCR em tempo real para detecção de infecção pelo vírus da DN, com tempo médio de realização de uma hora e de fácil

execução. As técnicas moleculares de diagnóstico têm despontado como uma alternativa interessante em comparação à metodologia convencional de caracterização viral, com vantagens em relação ao tempo de execução e ao custo (VIANNA et al., 2000; BAPTISTA et al., 2021).

7.3 Técnicas sorológicas

A presença de anticorpos específicos no soro fornece poucas informações a respeito da amostra infectante, mas pode ser suficiente para definição de estratégias de controle e extremamente útil para confirmar o sucesso de programas de vacinação. Uma ampla variedade de testes foi desenvolvida para detectar anticorpos contra o vírus da DN, entre eles a imunodifusão radial, hemólise radial, neutralização em placa e HI. Dentre todos os testes padronizados, o teste de HI é ainda o teste sorológico convencional utilizado como referência, apesar de existirem falhas na reprodutibilidade entre laboratórios (LEITE et al., 2020).

O ELISA tem substituído a reação de HI como técnica sorológica de escolha para monitoramentos e estudos de soroprevalência da DN, principalmente devido à possibilidade de automação e à disponibilidade de kits comerciais padronizados. Entretanto, com as vacinas utilizadas atualmente, é impossível diferenciar aves infectadas e aves vacinadas. Existem vários relatos de desenvolvimento de ELISA e de ELISA modificados baseados na utilização do vírus como antígeno com resultados variáveis em termos de sensibilidade, especificidade e correlação com HI (LEITE et al., 2020; BAPTISTA et al., 2021).

A utilização de testes sorológicos para ratitas tem sido abordada por vários autores, mas não existe consenso com relação à aplicabilidade das técnicas utilizadas para galinhas. Apesar da inibição da hemaglutinação ser a técnica recomendada pela OIE, há descrição da possibilidade de ocorrência de hemaglutinação inespecífica de soro de outras espécies com hemácias de galinhas e sugestão da utilização de hemácias da mesma espécie da amostra teste. A alternativa para laboratórios que não dispõem de hemácias da mesma espécie seria a pré-adsorção com hemácias de galinha (OIE, 2012).

Allwright (1996) comparando os testes HI e ELISA padronizado com conjugado biotilado produzido em coelho, considerou que a ocorrência de falsos negativos era extremamente alta no teste de HI e sugeriu que o ELISA deveria ser utilizado para detecção de anticorpos contra DN em avestruzes. Williams et al (1997) compararam o ELISA indireto desenvolvido por eles para detecção de anticorpos contra o vírus da DN em avestruzes e o teste de HI. Encontrando uma alta incidência de falsos negativos no teste de HI, os autores submeteram as amostras a pré-tratamento, aquecendo a 56°C e incubando posteriormente com kaolin, mas verificaram perdas da sensibilidade do teste. No entanto, Cadman et al (1997) também utilizando o tratamento prévio do soro para evitar reações inespecíficas na técnica de HI, relataram uma boa correlação com o ELISA desenvolvido, apesar de identificarem também queda da sensibilidade relacionada ao pré-tratamento do soro.

Outros autores, no entanto, obtiveram bons resultados utilizando HI para detecção de anticorpos contra o vírus da DN em avestruzes. Koch et al (1998) relataram resultados bastante próximos utilizando as técnicas HI, ELISA com conjugado anti-avestruz biotilado e neutralização viral (VN).

Bolte et al (1999) também descreveram correlação excelente entre VN e HI, sugerindo que os dois métodos poderiam servir para monitoramento vacinal nestes animais. No entanto, a utilização da VN como técnica de rotina tem como limitação o fato de ser laboriosa, além de demandar tempo e exigir a manutenção de vírus vivo no laboratório.

Sousa et al (2000) desenvolveram ELISA de bloqueio em fase líquida para detecção e quantificação de anticorpos para DN em avestruzes e emas, utilizando o teste de HI como referência e também verificaram excelente correlação entre as duas técnicas.

8 Controle e prevenção

Não existe tratamento para a DN. As aves infectadas devem ser sacrificadas, o ambiente deve passar pelos processos de limpeza e desinfecção e a propriedade é colocada em quarentena. Sendo assim, estas medidas de eliminação associadas a vacinação é uma combinação muito utilizada para o controle da doença (MELO et al., 2018).

Para a prevenção da DN, a vacinação é a medida mais eficiente, sendo sempre associada aos critérios de biossegurança adotados nos aviários comerciais. A primeira vacinação deve ser realizada nas aves de corte entre os 7 e 10 dias de vida via água de bebida seguida de mais duas doses aos 21 e 35 dias de idade. No caso de galinhas poedeiras, além das três doses anteriormente citadas, elas devem ser revacinadas entre os 70 e/ou 90 dias de vida. A vacina é composta por vírus vivo atenuado ou ainda inativado que deve ser realizada por via subcutânea ou intramuscular. Nas regiões consideradas livres da doença ou onde não se realizam a vacinação, a sorologia pode ser utilizada tanto para o diagnóstico como para a prevenção (SILVA, 2015).

De modo geral, melhorias em condições zootécnicas e a vacinação para criadores de aves caipiras, o isolamento sanitário na avicultura industrial de aves livres, as boas práticas de manejo, adoção de medidas sanitárias em plantéis avícolas, bem como a vigilância sorológica desses animais contribuem para a redução da incidência da DN (GONÇALVES, 2012; PRINZ, 2015).

Além disso o Departamento de Saúde Animal (DSA) do MAPA desenvolve atividades para evitar a entrada de doenças no Brasil, pois o ingresso de estirpes patogênicas do vírus pode ocorrer através do trânsito de passageiros, da importação de aves ou material genético das mesmas, produtos biológicos como o lixo de bordo de aviões e navios, bem como a transmissão por aves migratórias (SILVA, 2015; BAPTISTA et al., 2021).

Considerações finais

Como a avicultura é uma atividade de grande importância no Brasil e no mundo, a manutenção do *status* livre de DN se faz necessária a fim de manter todo processo de comercialização de aves e subprodutos no mercado interno e nas exportações.

Um conjunto de ações preventivas é necessário para evitar a ocorrência de um foco de DN. O cumprimento das normas estabelecidas pelo PNSA nas criações de aves comerciais, o acompanhamento contínuo de profissionais do MAPA, de órgãos fiscais e de empresas, a realização de um efetivo monitoramento epidemiológico e vigilância associados a programa de vacinal contribuem para a manutenção do atual *status* do país como livre da DN. Monitoramentos constantes em materiais de importação e de exportação são importantes barreiras para evitar a disseminação do agente.

As populações de aves selvagens, sinantrópicas e domésticas merecem esforços no monitoramento do vírus da DN, pois a suposição de que podem ser de baixa virulência para aves de produção não deve ser excessivamente confiável até que se tenha a caracterização biológica dos isolados e sua capacidade de adaptação aos hospedeiros.

Por ser uma enfermidade altamente contagiosa que resulta em elevados prejuízos zootécnicos e econômicos, a ação conjunta na identificação imediata de um foco suspeito a interdição da propriedade, o levantamento epidemiológico, diagnóstico, a descontaminação do criatório e a vigilância para a delimitação entre área livre e área infectada são de extrema importância para conter a propagação do vírus.

Referências

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2021**. Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf. Acesso em: 17 mar. 2022.

AFONSO, C.L. **Virulence during Newcastle Disease Viruses Cross Species Adaptation**. *Viruses* 2021, 13, 110. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/1/110>. Acesso em: 17 mar. 2022.

ALDOUS, E. W.; COLLINS, M. S.; MCGOLDRICK, A.; ALEXANDER, D. J. Rapid pathotyping of Newcastle disease virus (NDV) using fluorogenic probes in a PCR assay. **Veterinary Microbiology**, v.80, n.3, p.201-212, June 6, 2001.

ALEXANDER D. J.; SENNE D. A. **Newcastle Disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections**. Y.M. Saif, A.M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.E. Swayne (Eds.), *Diseases of Poultry* (twelfth ed.), Iowa State University Press, Ames, pp. 75-116, 2008.

ALI, A.; REINOLDS, D. L. A multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction assay for Newcastle disease virus and avian pneumovirus (Colorado strain). **Avian Diseases**, v.44, n.4, p.938-943, Oct./Dec. 2000.

ALLWRIGHT, D. Diseases and other veterinary aspects. Viruses encountered in intensively reared ostriches in southern Africa. In: DEEMINS, D. C. (Ed). **Proceedings of improving our Understanding of Ratites in a Farming Environment**. Manchester: Oxford Print Centre, 1996. p. 27-33.

BAPTISTA, F. M. F.; NASCIMENTO, I. M.; PIVETA, I. de S.; GONÇALVES, N. A.; PERES, B.; SILVA, L. T. F.; ARRUDA, D. A.; PONTES, D. B. de S.; FLORIANO, B. P.; MALDONADO, A. Newcastle in production birds: literature review. **Alm. Ciênc. Agr.**, v. 04, n. 01, p. 1-8, 2021.

BARON, L. F. et al. Desenvolvimento, caracterização e avaliação da citotoxicidade de virossoma para prevenção da doença de Newcastle em aves. In: **Anais...** 12ª Jornada da Iniciação Científica – JINC. 17 de outubro de 2018. Concórdia/SC. 2018.

BOMBASSARO, G. E. et al. Avaliação da resposta imune de uma nova vacina virossomal para prevenção da doença de Newcastle em aves. In: **Anais...** 13ª Jornada da Iniciação Científica – JINC. 23 de outubro de 2019. Concórdia/SC. 2019.

BOURSCHEID, Caroline Lemes Pereira Rego. **Vigilância de doenças virais em aves de subsistência criadas próximas a sítios de aves migratórias no estado de Mato Grosso**. 2019. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Medicina Veterinária, Cuiabá, 2019.

CARVALHO, R. N. et al. Doença de Newcastle: impactos sanitários na avicultura. In: **Anais...** XVI Semana Acadêmica. UNIFIMES. 18 a 20 de outubro de 2021. Disponível em: <https://www.unifimes.edu.br/ojs/index.php/anais-semana-universitaria/article/view/1352/1155>>. Acesso em: 07 mar. 2022.

CUNNINGHAM, C. H. **A Laboratory Guide in Virology**, 4 Th ed. Minneapolis: Bergees Publishing Co. 1966.

DEGEFA, T.; DADI, L.; YAMI, A.; MARIAM, K. G.; NASSIR, M. Technical and economic evaluation of different methods of Newcastle disease vaccine administration. **Journal Veterinary Medical**, v.51, p.365-369, 2004.

DIMITROV, K. M.; ABOLNIK, C.; AFONSO, C. L., et al. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. **Infection, Genetics and Evolution**, v.74, n.1, 103917, 2019.

DORETTO JÚNIOR, L.; PAULILLO, A.C. Doença de Newcastle. In: Andreatti Filho, R.L. (Ed), **Saúde Aviária e doenças**. São Paulo: Editora Roca. 2006. p. 168-81.

DOYLE, T. M. Newcastle disease of fowls. **Journal of Comparative Pathology**, v.48, p.1-20, 1935.

FERNANDES, L. M. B. **Doença De Newcastle: Padronização de Testes Sorológicos para o Diagnóstico em Avestruzes (*Struthio camelus*) e Avaliação Soroepidemiológica nos Estados da Bahia e de São Paulo**. Tese (Doutorado em Imunologia) – Instituto de Ciências da Saúde – Universidade Federal da Bahia. Salvador. 2006.

FROZZA, R.; BADO, C.; CASELLES, A. S. Ação do cloreto de benzalcônio frente ao vírus de influenza e Newcastle. **Revista PUBVET**, v.14, n.2, a512, p.1-4, 2020.

FÜNKLER, G. R. **Detecção de Salmonella spp., Mycoplasma gallisepticum e anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle em espécimes de Paroaria coronata e Saltator similis apreendidos pela fiscalização ambiental no RS.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

GIOTTO, D. B. **Simulação da Disseminação da Doença de Newcastle Relacionando o Trânsito de Veículos entre Empresas Integradoras e Unidades de Produção de Frangos de Corte.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias na área de Medicina Veterinária Preventiva, especialidade Sanidade Avícola) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária. Porto Alegre. 2009.

GONÇALVES, M. C. M. **Produção de antígenos recombinantes do vírus da doença de newcastle para aplicação no imunodiagnóstico.** 2012. 97p. Tese (doutorado). Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal. Jaboticabal-SP. 2012.

HANSON, R. P. Newcastle disease. In: Hitchner, S. B.; Domermuth, C. H.; Purchase, H. G.; Williams, J. E. (eds.), **Isolations and Identifications of Avian Pathogens**, 2 nd ed. New York: American Association of Avian Pathologists, 1980, p. 63–66.

HUA, Y. P.; CHAI, H. L.; YANG, S. Y.; ZENG, X. W.; SUN, Y. Primary survey of avian influenza virus and Newcastle disease virus infection in wild birds in some areas of Heiglongjiang Province, China. **Journal of Veterinary Science**, v.6, n.4, p.311- 315, 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.

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. **Taxonomy**. 2019. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy>. Acesso em: 18 mar. 2022.

JAENISCH, F. R. F. Biosseguridade na produção de frango no sistema agroecológico. In: curso virtual sobre produção agroecológico de frango de corte, 1., 2003, Concórdia/ SC. **Anais...** Concórdia: 2003, p. 43-50.

JORGE, M. A.; MARTINS, N. R. S.; RESENDE, J. S. Método caseiro. **Avicultura Industrial**, v.1, n.1075, p 20-21, 2000.

KAPCZYNSKI, D. R.; KING, D. K.; 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.

KIM, Shin-Hee; SAMAL, Siba K. Newcastle disease virus as a vaccine vector for development of human and veterinary vaccines. **Viruses**, v. 8, n. 7, p. 183, 2016.

KOMMERS, G.D.; KING, D.J.; SEAL, B.S.; BROWN, C.C. Pathogenesis of chicken-passaged Newcastle Disease Viruses isolated from chickens and wild and exotic birds. **Avian Diseases**, v.47, n.2, p. 319-329, 2002.

LEEUW, O.S.; KOCH, G.; HARTOG, L.; RAVENSHORST, N. Virulence of Newcastle disease virus is determined by the cleavage site of the fusion protein and by both the stem region and globular head of the haemagglutininneuraminidase protein. **Journal of General Virology**, v.86, p.1759-1769, 2005.

LEITE, A. T. M. et al. Investigação de vírus de impacto na sanidade avícola em aves silvestres próximas a uma criação de aves coloniais em Pelotas, RS. **Science and Animal Health**, v.8, n.1, p.73-87, 2020.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Sanidade Avícola**. Plano de Contingência para Influenza Aviária e Doença de Newcastle. Versão 1.4. Brasília, 59 p., 2013.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. Programa Nacional de Sanidade Avícola – PNSA. **Estudo para avaliação de circulação do vírus da influenza aviária e da doença de Newcastle em plantéis avícolas industriais**. Brasília-DF, 2016. 82p. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/imagens/Relatorio_estudoAves_nov_2016_final.pdf. Acesso em: 20 mar. 2022.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Doença de Newcastle**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/doenca-de-newcastle-dnc>. Acesso em: 23 mar. 2022.

MARTINS, N. R. S.; ECCO, R. Doença de Newcastle. Cadernos técnicos de veterinária e zootecnia. **Sanidade Agrícola**. Minas Gerais, n. 76, p. 33-48, 2015.

MATTOS, A. B. **Sorologia e pesquisa viral para doença de newcastle em galinhas de quintal na microrregião de Feira de Santana, Bahia - Brasil**. 2013. 49p. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação do curso de Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária, do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em defesa agropecuária. Cruz das Almas-BA. 2013.

NAKAYA, T.; CROS, J.; PARK, M. S.; NAKAYA, Y.; ZHENG, H.; SAGRERA, A; VILLAR, E; GARCÍA-SASTRE, A.; Palese, P. **Recombinant Newcastle disease virus as a vaccine vector**. *Journal Virology*, v 75, n. 11868 - 73, 2001.

NOORUZZAMAN, M., BARMAN, L. R., MUMU, T. T., CHOWDLURY, E. H., DIMITROV, K. M., & ISLAM, M. R. A Pigeon-Derived Sub-Genotype XXI. 1.2 Newcastle Disease Virus from Bangladesh Induces High Mortality in Chickens. **Viruses**, v.13, n.8, p.1520, 2021.

OIE. Organização Mundial de Sanidade Animal. **Terrestrial Animal Health Code**. Paris, 21ª Ed., v.1, 2012. Disponível em: <http://www.oie.int/international-standardsetting/terrestrial-code/>. Acesso em: 07 mar. 2022.

OIE. Organização Mundial de Sanidade Animal. **OIE Terrestrial Manual Newcastle disease**. Chapter 3.3.14, 2021. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf. Acesso em: 24 mar. 2022.

OLIVEIRA JÚNIOR, J. G.; SCHIAVO, P. A.; DORETTO 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.948-951, 2005.

OLIVEIRA, P. M. dos S. **Avaliação morfométrica, histopatológica da traquéia e resposta imune de frangos de corte vacinados com diferentes cepas contra a doença de Newcastle.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, BR-PE, 2019.

ONO, J. N.; LIA, C. B.; RIBEIRO, L. F. Doença de Newcastle. **GETEC**, v.10, n.25, p.9-13,2021.

PALYA V., KISS I., TATAR-KIS T., MATO T., FELFOLDI, GARDIN Y. **Advancement in vaccination against Newcastle disease: recombinant HVT NDV provides high clinical protection and reduction challenge virus shedding, with the absence of vaccine reaction.** *Avian Dis.*, 56 (2012), pp. 282-287.

PFITZER, S.; VERWOERD, D. J.; GERDES, G. H.; LABUSCHAGNE, A. E.; REASMUS, A.; MANVELL, R. J.; GRUND, C. Newcastle disease and avian influenza A virus in wild waterfowl in South Africa. **Avian Diseases**, v.44, p.655– 660, 2000.

PHAM, H. M.; NAKAJIMA, C.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Loop-Mediated Isothermal Amplification for Rapid Detection of Newcastle Disease Virus. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, p.1646-1650, 2005.

PIACENTI, A.M.; KING, D.J.; SEAL, B.S.; ZHANG, J.; BROWN, C.C. Pathogenesis of Newcastle Disease in Commercial and Specific Pathogen-free Turkeys Experimentally Infected with Isolates of Different Virulence. **Vet Pathol**, v. 43, n. 2, p.168-178, 2006.

PINHEIRO, A.; COSTA, M. F. D.; PAULE, B.; VALE, V.; RIBEIRO, M. B.; NASCIMENTO, I. L. O.; SCHAER, R.; ALMEIDA, M. A. O.; MEYER, R. ; FREIRE, S. M. Serologic immunoreactivity to Neospora caninum antigens in dogs determined by indirect immunofluorescence, Western blotting and DOT-ELISA. **Veterinary Parasitology**, v. 30, n.1-2, p. 73-79, 2005.

PRINZ, M. S. et al. Monitoring of Newcastle disease in poultry at migratory birds landing sites: Mangue Seco and Cacha Pregos between 2013 and 2014*. **Arq. Inst. Biol.**, v.87, 1-8, e0122020, 2020.

REYNOLDS, D. L.; MARAQA, A. D. Protective immunity against Newcastle disease: the role of cell-mediated immunity. **Avian Diseases**, v.44, n.1, p.145-154, Jan/Mar 2000.

ROVID-SPICKLER, A. **Doença de Newcastle. Infecção por Paramyxovírus aviário tipo 1, infecção por Paramyxovirus dos gansos, Doença de Ranikhet.** Instituto Federal Catarinense. Santa Catarina, p. 1-11, janeiro, 2016.

SAMBERG, Y.; HADASH, D. U.; PERELMAN, B.; MEROZ. M. Newcastle disease in ostriches (*Struthio camelus*): field case and experimental infection. **Avian Pathology**, v.18, n.1, p.221-226, 1989.

SAMSON, A. C. R. Virus structure. In: ALEXANDER, D. J., (ed.). **Newcastle Disease.** Boston: Kluwer Academic Publishers, 1988. p. 23-44.

SILVA, K. R. **Desenvolvimento e aplicação do Elisa indireto com a nucleoproteína recombinante (NPR) do vírus da doença de newcastle.** 2015. 74p. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área de Patologia Animal. Jaboticabal-SP. 2015.

STECANELLA, V. G.; YASUMITSU, C.Y.; FRANÇOLIN, F. S.; MOLINARI, B. L. D. Paramixovirose aviária: relato de caso. **Rev. UNINGÁ Review**, v. 34, n.1, p. 41, 2019.

SWAYNE, D.E.; KING, D.J. Avian influenza and Newcastle disease. **Journal of american veterinary medicine association**, v.222, n.11, p.1534-1540, 2003.

TSAI, H. J.; CHANG, K. H.; TSENG, C. H.; FROST, K. M.; MANVELL, R. J.; ALEXANDER, D.J. Antigenic and genotypical characterization of Newcastle disease viruses isolated in Taiwan between 1969 and 1996. **Veterinary Microbiology**, v.104, p.19-30, 2004.

VIANNA, J. S. M.; MAZUR, C.; PORTZ, C.; FERREIRA, I. I.; ALMEIDA, C. A. S.; GALLER, R. Identificação e caracterização biomolecular do vírus da doença de Newcastle pela técnica de RT-PCR. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.22, n.4, 2000.

WANG Y., YU W., HUO N., WANG W., GUO Y., WEI Q., WANG X., ZHANG S., YANG Z., XIAO S. Comprehensive analysis of amino acid sequence diversity at the F protein cleavage site of Newcastle disease virus in fusogenic activity. **PLoS One**, v.12, n.9, e0183923, 2017.

WILKS, C. R. Molecular diagnosis of Newcastle disease. **Australian Veterinary Journal**, v.80, n.6, p.352, 2002.

ZHUHUI, H.; 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.