

INVESTIGAÇÃO DE VÍRUS DE IMPACTO NA SANIDADE AVÍCOLA EM AVES SILVESTRES PRÓXIMAS A UMA CRIAÇÃO DE AVES COLONIAIS EM PELOTAS, RS

LEITE, Alice Teixeira Meirelles¹;
FISCHER, Geferson²;
HÜBNER, Silvia de Oliveira²;
LIMA, Marcelo de²;
VARGAS, Gilberto D'Avila².

Recebido: 14/11/2019

Aceito: 27/04/2020

¹Médica Veterinária, Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPEL; ²Médico(a) Veterinário(a), Doutor(a), Professor(a), Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, UFPEL.

RESUMO

Brasil é o segundo maior produtor mundial de carne de frango, com 13,245 milhões de toneladas, e o maior exportador, com 4,214 milhões de toneladas destinadas à exportação, no ano de 2019. Aves silvestres de vida livre, devido as suas características biológicas, são capazes de carrear microrganismos patogênicos de forma biológica ou mecânica, podendo atuar como disseminadores de diferentes enfermidades na produção industrial, comercial ou doméstica de aves. O objetivo deste estudo foi investigar a exposição aos vírus da doença de Newcastle (NDV), da doença de Marek (MDV) e da doença de Gumboro (IBDV) em aves silvestres residentes próximo a uma criação de aves coloniais na região de Pelotas – RS. A metodologia empregada foi a detecção de material genético viral por RT-PCR e PCR em suabes de orofaringe e cloaca, e pesquisa de anticorpos por ELISA em amostras de soro e sangue total colhido em papel filtro. Foram capturadas aves da ordem Passeriformes (n=20) e ordem Columbiformes (n=13). Não foi detectada a presença de NDV e MDV por métodos moleculares nas aves silvestres pesquisadas (n=24), nem anticorpos contra NDV e IBDV nos ensaios imunoenzimáticos (n=30). Os resultados obtidos reforçam a importância da vigilância contínua dos vírus potencialmente patogênicos aos plantéis avícolas através do monitoramento de aves migratórias, dada a importante posição do Brasil no mercado produtor e exportador de frangos de corte.

Palavras-chave: NDV. Doença de Marek. IBDV. PCR. ELISA.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de carne de frango, com 13,245 milhões de toneladas, e o maior exportador, com 4,214 milhões de toneladas destinadas à exportação, gerando uma receita cambial de US\$ 6,994 milhões, valores referentes ao ano de 2019 (ABPA, 2020). Devido ao rigoroso padrão de qualidade imposto pelas barreiras sanitárias, o emprego de métodos de controle de qualidade já é rotina para as empresas avícolas brasileiras, sendo a interação entre os plantéis e as aves silvestres um dos meios mais comuns de disseminação de doenças (SALLE; MORAES, 2009; SCAGION, 2015). As aves são indicadores de biodiversidade e já foram usadas de maneira eficaz na avaliação da conservação de áreas, assim como na identificação de grandes centros de endemismo terrestre (WEGE; GOERCKE, 2006). Aves selvagens de vida livre são potenciais portadores e carreadores de diversos agentes patogênicos. Mesmo espécies residentes podem se deslocar de 50 a 100 km, e espécies migratórias podem transportar patógenos viáveis a locais distantes durante movimentos erráticos (HUBÁLEK, 2004).

As doenças de origem viral provocam grandes prejuízos para avicultura, uma vez que normalmente induzem redução do desenvolvimento e mortalidade nas aves, principalmente por causarem deficiências imunológicas, o que predispõe a infecções secundárias (HIRSCHMANN et al., 2019). Entre essas doenças estão: a doença de Newcastle, a doença de Marek e a doença de Gumboro. A doença de Newcastle (ND) é uma enfermidade viral aguda, causada pelo Paramyxovírus tipo I, gênero *Avulavirus* da família *Paramyxoviridae*, altamente contagiosa, que acomete aves silvestres e comerciais, apresentando distribuição mundial (MAPA, 2013). A infecção pode apresentar-se de modo subclínico ou com alterações respiratórias moderadas e queda na produção de ovos. Dependendo da virulência da amostra viral, elevada mortalidade com alterações respiratórias graves e sinais neurológicos podem ocorrer (ARNS et al., 2007). Por sua importância sanitária estratégica, a ocorrência de um surto da ND pode resultar na interrupção da exportação regional ou nacional da carne de frango e subprodutos avícolas, acarretando enormes prejuízos econômicos aos países com notificação da enfermidade (ARNS et al., 2007; MAPA, 2013).

A doença de Marek é uma doença linfoproliferativa altamente infecciosa, causada por um Herpesvírus, gênero *Mardivirus* da família *Herpesviridae*, que afeta galinhas (MDV-1 e MDV-2) e perus (HVT) (CANAL; BARBOSA, 2009). A infecção ocorre por inalação da poeira dos criatórios contendo o agente eliminado pelos folículos das penas, secreção nasal, saliva, urina e fezes (KALETA; DOCHERTY, 2007). O agente pode persistir por longos períodos no meio ambiente e é tão ubíquo que provavelmente todas as aves domésticas do mundo, em algum momento da vida, estarão expostas a ele. O vírus da doença de Marek é um importante patógeno na produção avícola e tem sido intensivamente estudado por pesquisadores no mundo, porém, pouco no Brasil (FRANCO; ROEHE, 2007).

A doença de Gumboro ou doença infecciosa da Bursa (IBD) é uma enfermidade altamente imunossupressora, que aumenta a susceptibilidade das aves jovens a outras doenças infecciosas. Seu agente etiológico é um Birnavírus pertence ao gênero *Avibirnavirus* da família *Birnaviridae*, e se multiplica nos tecidos linfóides, com predileção pela bursa de Fabricius (ETERRADOSSI; SAIF, 2013). Diferentes cepas do sorotipo 1 são reconhecidas de acordo com a virulência, e cepas hipervirulentas têm sido isoladas em aves industriais no Brasil, estando entre os vírus que causam as maiores perdas econômicas para a indústria avícola (DI FABIO et al., 1999). Com base em evidências sorológicas da infecção pelo vírus da doença de Gumboro do sorotipo 1 em aves selvagens, foi sugerido que essas podem desempenhar um papel na epidemiologia da doença, servindo como reservatório para o vírus (OGAWA et al., 1998; WILCOX et al., 1983).

Tendo em vista que o contato entre aves de vida livre e de produção é um fator determinante para a disseminação de patógenos de interesse para a avicultura comercial, este estudo teve como objetivo investigar a exposição aos vírus da doença de Newcastle, da doença de Marek e da doença de Gumboro em aves silvestres próximas a uma criação de aves coloniais na região de Pelotas – RS.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Virologia e Imunologia (LABVIR) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, conforme Certificado de Aprovação CEEA número 3519 e autorização do ICMBio/CEMAVE número 45466-1.

O local escolhido foi uma propriedade com terminação de aves coloniais em um sistema semi-intensivo, na qual as aves silvestres tinham acesso aos galpões e aos piquetes, e na qual os dois grupos eram observados forrageando juntos. A população de aves silvestres residentes da região (n=33) utilizada no estudo foi capturada na área dos piquetes, em redes de neblina com malha de 30 mm nas primeiras horas da manhã, nos meses de maio e junho. Como controle, foram incluídas no estudo amostras de pintos coloniais das linhagens carijó (n=8), gris cendré (n=8), gigante negro (n=8) e vermelho (n=8), com aproximadamente 30 dias, vacinados contra o vírus da doença de Marek e IBDV no incubatório de origem no primeiro dia de vida (Tabela 1).

Tabela 1 - População de aves silvestres e de pintos coloniais utilizada no estudo.

Espécie	Nome popular	Nº de animais
<i>Columbina picui</i>	Rolinha-picui	13
<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	6
<i>Passer domesticus</i>	Pardal	5
<i>Sicalis luteola</i>	Tipio	3
<i>Molothrus badius</i>	Asa-de-telha	2
<i>Furnarius rufus</i>	João-de-barro	1
<i>Zonotrichia capensis</i>	Tico-tico	1
<i>Paroaria coronata</i>	Cardeal	1
<i>Sicalis flaveola</i>	Canário-da-terra	1
<i>Gallus gallus domesticus</i>	Frango colonial carijó	8
<i>Gallus gallus domesticus</i>	Frango colonial gris cendré	8
<i>Gallus gallus domesticus</i>	Frango colonial gigante negro	8
<i>Gallus gallus domesticus</i>	Frango colonial vermelho	8
<i>Total</i>		65

Para investigação dos vírus circulantes, amostras foram coletadas de suabes de orofaringe (n=32) e cloaca (n=32) das aves coloniais, e suabes de orofaringe (n=24) e cloaca (n=24) das aves silvestres, armazenados em tubos tipo *Eppendorf* e mantidos em caixas isotérmicas com gelo até o processamento. Amostras de sangue foram obtidas dos pintos (n=8) por punção da veia braquial, e das aves silvestres (n=30) pelo corte da unha, impregnadas em 3 cm² de papel-filtro, seco e armazenado à temperatura ambiente até a eluição. Devido ao pequeno tamanho das aves silvestres, em alguns exemplares não foi possível coletar os suabes, ou a amostra de sangue não foi suficiente para análise. As aves silvestres foram

identificadas quanto ao gênero e espécie, de acordo com a Lista das Aves do Brasil, do Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO, 2011), marcadas com anilhas plásticas coloridas para evitar a recaptura e soltas imediatamente após a manipulação.

A etapa de extração de RNA e DNA foi executada com o kit Invisorb® Spin Universal (STRATEC Molecular GmbH, Germany), e, a seguir, o RNA foi transcrito em cDNA com o kit M-MLV Reverse Transcriptase Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, USA), de acordo com as normas dos fabricantes. Os produtos foram armazenados a -80 °C até a amplificação do material genético por RT-PCR e PCR, utilizando-se os *primers* descritos da Tabela 2.

A RT-PCR para detecção do NDV foi realizada em um volume de 13 µL, contendo 6 µL de GoTaq® Colorless Master Mix (Promega Corporation, USA), 0,5 µL do *primer* NDVF (0,025 µmol), 0,5 µL do *primer* NDVR (0,025 µmol) e 3 µL de cDNA, completando-se o volume com água ultrapura. A amplificação foi obtida com um ciclo inicial de 2 minutos a 94 °C, 30 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 45 °C e 1 minuto a 72 °C, seguido por um ciclo de 5 minutos a 72 °C (adaptado de HAQUE et al., 2010).

A PCR para detecção do MDV foi realizada num volume de 12 µL, contendo 6 µL de GoTaq® Colorless Master Mix (Promega Corporation, USA), 0,5 µL do *primer* HVT-gA-3 F (0,025 µmol), 0,5 µL do *primer* HVT-gA-3 R (0,025 µmol) e 1 µL de DNA, completando-se o volume com água ultrapura. A amplificação foi obtida com um ciclo inicial de 1 minuto a 94 °C, 30 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 55 °C e 30 segundos a 72 °C, seguido por um ciclo de 10 minutos a 72 °C (SADEGHI et al., 2006).

Como amostras de referência foram utilizadas vacinas com vírus vivos da doença de Newcastle (New-Vacin® HB1 – cepa HB1, Biovet, Brasil) e da doença de Marek (Bio-Mark-Vet C® – cepa HVT – FC-126, Biovet, Brasil).

Os produtos de PCR foram separados em um gel de agarose a 1,5 % em tampão TBE (Tris Base, ácido bórico e EDTA) corado com brometo de etídio, comparados com um marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen®) e visualizados sob luz ultravioleta.

Para os ensaios imunoenzimáticos foi realizada a eluição dos anticorpos do soro a partir do papel-filtro, conforme metodologia descrita por Fonseca et al. (2007). Os níveis de

anticorpos específicos contra NDV e IBV foram avaliados pelo método ELISA utilizando kits comerciais (IDEXX NDV[®] e IDEXX IBV[®], IDEXX Laboratories, USA, respectivamente), seguindo a recomendação do fabricante. Os resultados foram expressos em densidade óptica (D.O.), e os títulos foram calculados conforme descrito pelo fabricante.

Tabela 2 - Primers utilizados na reação de RT-PCR e PCR.

<i>Primer</i>	Sequência (5' – 3')	Tamanho do produto	Referências
NDVF	GCAGCTGCAGGGATTGTGGT	356 pb	Nanthakumar et al., 2000
NDVR	TCTTTGAGCAGGAGGATGTTG		
HVT-gA-3 F	CGCGTACTGCGCCTGACG	388 pb	Zhu et al., 1992
HVT-gA-3 R	CAACTTCGCTCTTGACG		

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência das espécies domésticas e silvestres amostradas e o material biológico obtido está relacionado na Tabela 3. Dentre as aves silvestres, os exemplares da Ordem Passeriformes (n=20) predominaram sobre os da Ordem Columbiformes (n=13). Ambas as ordens são comumente observadas na área de estudo, e a disponibilidade de grãos e árvores frutíferas nos piquetes dos frangos coloniais pode ter sido um fator determinante da sua abundância em relação ao esforço de coleta nos locais de captura.

Nesse estudo não foi detectada a presença de NDV ou de MDV por RT-PCR e PCR nas aves pesquisadas, embora os pintos coloniais tivessem histórico de vacinação contra o vírus da doença de Marek no incubatório de origem, no primeiro dia de vida. Em galináceos, os suabes orofaríngeos são considerados as melhores amostras para a detecção de NDV (SPACKMAN et al., 2013), porém Das et al. (2006) demonstraram que amostras cloacais e de tecidos dos pulmões, baço e intestino de aves selvagens são de difícil extração de RNA, devido a seu elevado conteúdo de inibidores de RT-PCR, razão pela qual a amostra escolhida para análise foi a que resultaria em menor prejuízo aos animais.

Embora o vírus de Newcastle exista no Brasil desde a década de 50, a sua incidência é baixa em aves silvestres, conforme aponta o trabalho de Thomazelli et al. (2012). Um estudo sorológico para a doença de Newcastle encontrou uma baixa prevalência (1,43%) deste vírus em aves silvestres de zoológicos do estado do Rio de Janeiro (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2003).

Para reforçar a importância de aves silvestres na epidemiologia da doença de Newcastle, Silva et al. (2006) analisaram o soro sanguíneo de 103 pardais (*Passer domesticus*) capturados em granjas de corte e postura localizadas no estado de Pernambuco, através do teste de Inibição da Hemaglutinação, e detectaram títulos de anticorpos que variaram entre 2 e 64 em 10,68% das aves, com sorologia positiva e isolamento viral obtidos de pardais provenientes de granjas de postura. Esses títulos são consequência do consumo de vacinas adicionadas à água de bebida de aves de produção, indicando a estreita proximidade e a potencial troca de patógenos entre essas aves silvestres e os plantéis avícolas.

Tabela 3 - Frequência das espécies amostradas e amostras biológicas analisadas.

Espécie	Nome popular	Ordem	N° de animais	Amostras		
				sangue	suabe orofaringe	suabe cloaca
<i>Columbina picui</i>	Rolinha-picui	Columbiformes	13	13	11	11
<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	Passeriformes	6	6	6	6
<i>Passer domesticus</i>	Pardal	Passeriformes	5	5	3	3
<i>Sicalis luteola</i>	Tipio	Passeriformes	3	3	1	1
<i>Molothrus badius</i>	Asa-de-telha	Passeriformes	2	2	0	0
<i>Furnarius rufus</i>	João-de-barro	Passeriformes	1	0	1	1
<i>Zonotrichia capensis</i>	Tico-tico	Passeriformes	1	0	1	1
<i>Paroaria coronata</i>	Cardeal	Passeriformes	1	1	0	0
<i>Sicalis flaveola</i>	Canário-da-terra	Passeriformes	1	0	1	1
Total silvestres			33	30	24	24
<i>G. gallus domesticus</i>	Frango colonial carijó	-	8	8	8	8
<i>G. gallus domesticus</i>	Frango colonial gris cendré	-	8	8	8	8
<i>G. gallus domesticus</i>	Frango colonial gigante negro	-	8	8	8	8
<i>G. gallus domesticus</i>	Frango colonial vermelho	-	8	8	8	8
Total domésticos			32	32	32	32
Total geral			65	62	56	56

Em relação à doença de Marek, sabe-se que a vacinação reduz, mas não impede a infecção nem a excreção viral, o que favorece a disseminação do vírus a campo e a seleção de cepas cada vez mais virulentas, o que dificulta o controle da enfermidade (FRANCO; ROEHE, 2007; SILVA, 2014). Murata et al. (2012) investigaram a presença de MDV-1 em aves selvagens em uma região do Japão e constataram alta prevalência do vírus em aves aquáticas migratórias e sedentárias. Segundo Boodhoo et al. (2016), a presença de MDV em aves selvagens e migratórias tem sido bem documentada desde o início de 1980. Portanto, não é surpresa que surjam novos relatos à medida que esses vírus são identificados em novos hospedeiros. Para controlar os surtos de campo do MDV no futuro, é aconselhável monitorar periodicamente o agente em aves aquáticas selvagens (MURATA et al., 2012), bem como

entender a importância das aves selvagens como reservatórios ao longo de rotas migratórias para sorotipos patogênicos (BOODHOO et al., 2016).

Os ensaios imunoenzimáticos mostraram resultados negativos para anticorpos contra NDV em todos os animais testados, e contra IBDV nas aves silvestres. No entanto, 100% (8/8) dos frangos coloniais testados apresentaram positividade para anticorpos contra IBDV, com títulos variando entre 416 e 4.250, provavelmente como resultado da vacinação. A detecção de IBVD nas aves silvestres foi realizada apenas por método indireto (níveis de anticorpos específicos) por se tratar de animais adultos, nos quais a bolsa de Fabricius já regrediu (ETERRADOSSI; SAIF, 2013). Segundo Bolis et al. (2003), títulos superiores a 8.000 indicam exposição ao vírus no campo. O ELISA é o teste sorológico rotineiramente utilizado para detectar anticorpos contra o IBDV, por permitir o processamento de grande número de amostras simultaneamente (ASHRAF et al., 2006). A presença de cepas muito virulentas de IBDV tem sido reportada em países como Bolívia, Brasil, Colômbia, Uruguai, Venezuela e República Dominicana (BANDA; VILLEGAS, 2004). Segundo Moraes (2004), em dados do Centro de Diagnóstico em Patologia Aviária (CDPA), no período de 1999-2004, a doença infecciosa da bolsa de Fabricius correspondia a cerca de 30% do total de diagnósticos efetuados naquele laboratório. Vargas et al. (2007) relataram, também, ocorrência da enfermidade em um lote de frangos de corte no Rio Grande do Sul com cerca de 12,5% de mortalidade.

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 1994) prevê atividades de vigilância ativa (captura e colheita de amostras) para o monitoramento da Doença de Newcastle em aves migratórias na Estação Ecológica do Taim e seu entorno. O local é considerado um sítio de invernada de grande importância para aves migratórias, devido aos milhares de indivíduos que chegam e permanecem na região no período de junho a agosto. Entretanto, poucos dados são publicados sobre este monitoramento. Um estudo realizado no inverno de 2011 na Estação Ecológica do Taim concluiu que o estado do Rio Grande do Sul permanecia, até aquele momento, sem registro da visita de aves infectadas por Doença de Newcastle (DOMINGUES et al., 2012). Já um estudo mais recente realizou um inquérito epidemiológico de doenças virais em aves domésticas no período de 2000 a 2016 no sul do Rio Grande do

Sul, e encontrou cerca de 16% das aves avaliadas positivas para doenças virais. Das aves infectadas, 42% apresentaram a doença de Marek e 31,8% foram positivas para a doença infecciosa da bolsa de Fabricius (HIRSCHMANN et al., 2019). Um outro estudo, avaliou a causa da morte de aves silvestres no sul do Rio Grande do Sul, e as doenças virais nessas aves foram responsáveis por 0,97% dos óbitos (ECHENIQUE et al., 2020).

Atualmente, no sul do Rio Grande do Sul, pesquisas e ações de desenvolvimento para a avicultura colonial têm sido realizadas com o objetivo de promover evolução tecnológica para o setor, estimulada pelo crescente interesse do consumidor por alimentos de origem animal produzidos dessa forma. Entretanto, o regime semiconfinado, no qual os animais têm acesso às pastagens após 28 dia de idade, expõe os indivíduos ao contato com aves silvestres residentes e migratórias (REICHERT et al., 2011; ZABALETA; GONÇALVES, 2009). Desta forma é de fundamental importância que haja um controle rígido de agentes patogênicos que possam ser transmitidos pelas aves de vida livre ao animais coloniais, para evitar prejuízos a avicultura colonial.

CONCLUSÃO

No presente estudo não foi detectada a excreção ou o contato prévio das aves pesquisadas com NDV, MDV ou IBDV pelas técnicas diagnósticas empregadas, seja pela ausência de exposição ao vírus ou pela excreção intermitente do agente. No entanto, dada a facilidade de disseminação dos agentes a campo e a dificuldade de controle dessas enfermidades, sugere-se contínua vigilância dos vírus potencialmente patogênicos pelo monitoramento de aves vida livre, considerando que o contato intra e interespécies pode desempenhar um papel relevante na transmissão de doenças.

INVESTIGATION OF IMPACT VIRUSES IN POULTRY HEALTH OF WILD BIRDS NEAR A FREE RANGE POULTRY FARM IN PELOTAS, RS

ABSTRACT

Brazil is the second largest producer of chicken meat, with a production of 13.245 millions of tons in 2019 and, about 4.214 millions of tons were intended for export. Wild birds, of free life, due to their biological characteristics are capable of carrying pathogenic microorganisms both biologically or mechanically, acting as disseminators of several different diseases in industrial, commercial and even domestic poultry production. This study aims to investigate the exposure of wild birds living near a free range poultry farm in the region of Pelotas – RS to Newcastle Disease Virus (NDV), Marek's Disease Virus (MDV) and Infectious Bursal Disease Virus (IBDV). The methodology used was the viral genetic material detection using RT-PCR and PCR in cloacal and oropharynx swabs and, antibody detection by ELISA serology in total blood samples collected in filter paper. Birds from the order Passeriformes (n=20) and Columbiformes (n=13) were captured. It was not detected the presence of NDV or MDV through molecular methods in the considered wild birds (n=24), antibodies for NDV and IBDV were also negative in the immunoenzymatic assays (n=30) performed. The findings, therefore, reinforce the importance of continuous surveillance of viruses potentially pathogenic for poultry breeding through monitoring migratory birds, especially considering the important position Brazil has in chicken meat production and exportation.

Keywords: NDV. Marek's disease. IBDV. PCR. ELISA.

INVESTIGACIÓN DE VIRUS DE IMPACTO EN LA SANIDAD AVÍCOLA EN AVES SILVESTRES CERCA A UNA CRÍA DE AVES DE CORRAL EN PELOTAS, RS

RESUMEN

Brasil es el segundo productor mundial de carne de pollo, con una producción de 13,245 millones de toneladas en 2019, con alrededor de 4,214 millones de toneladas destinadas a la exportación. Las aves silvestres libres, debido a sus características biológicas, son capaces de transportar microorganismos patógenos sobre una base biológica o mecánica, y pueden actuar como diseminadores de diferentes enfermedades en la producción avícola industrial, comercial o doméstica. El objetivo de este estudio es investigar

la exposición a los virus de la enfermedad de Newcastle (NDV), de la enfermedad de Marek (MDV) y de la enfermedad infecciosa de la bolsa de Fabricio (IBDV) en aves silvestres que residen cerca de una granja de aves de corral en la región de Pelotas – RS. La metodología empleada fue la detección de material genético viral por RT-PCR y PCR en hisopos de orofaringe y cloaca, y la detección de anticuerpos ELISA en muestras de suero y sangre completa recolectadas en papel de filtro. Las aves Paseriformes capturadas (n=20) predominaron sobre las Columbiformes (n=13). No se detectó presencia de NDV y MDV por métodos moleculares en las aves silvestres estudiadas (n=24), ni anticuerpos contra NDV e IBDV en ensayos inmunoenzimáticos (n=30). Los resultados refuerzan la importancia de la vigilancia continua de los virus potencialmente patógenos para a avicultura a través del monitoreo de las aves migratorias, dada la importante posición de Brasil en el mercado de productores y exportadores de pollos de corte.

Palabras clave: NDV. Enfermedad de Marek. IBDV. PCR. ELISA.

REFERÊNCIAS

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2020**. Disponível em: <http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf> .

ARNS, C. W.; SPILKI, F. R.; ALMEIDA, R. S. Paramyxoviridae. In: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Editora da UFSM, 2007. P. 657-688.

ASHRAF, S.; ABDEL-ALIM, G.; SAIF, Y. M. Detection of antibodies against serotypes 1 and 2 infectious bursal disease virus commercial ELISA kits. **Avian Diseases**, v. 50, n. 1, p. 104-109, 2006.

BANDA, A; VILLEGAS, P. Genetic Characterization of Very Virulent Infectious Bursal Disease Viruses from Latin America. **Avian Diseases**, v. 48, n. 3, p. 540-549, 2004.

BOLIS, D. A.; PAGANINI, F. J.; SIMON, V. A.; et al. Gumboro disease: evaluation of serological and anatomopathological responses in vaccinated broiler chickens challenged with very virulent virus strain. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, n. 2, p. 137-146, 2003.

BOODHOO, N.; GURUNG, A.; SHARIF, S.; et al. Marek's disease in chickens: a review with focus on immunology. **Veterinary research**, v. 47, n. 119, p. 1-19, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria Nº 193, de 19 de setembro de 1994, institui o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA). **Diário Oficial da União**, publicado em 19/09/1994, seção 1, p. 13, 1994.

CANAL, C. W.; BARBOSA, T. M. C. Enfermidade de Marek, Complexo Leucótico Aviário e

Reticuloendoteliose. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FABIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das Aves**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009. P. 569-586.

CBRO - COMITÊ BRASILEIRO DE REGISTROS ORNITOLÓGICOS. **Lista das aves do Brasil**. 10. ed. 2011.

DAS, A.; SPACKMAN, E.; SENNE, D.; et al. Development of an internal positive control for rapid diagnosis of avian influenza virus infections by real-time reverse transcription-PCR with lyophilized reagents. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 9, p. 3065-3073, 2006.

DI FABIO, J.; DE CASTRO, A. G.; GARDIN, Y.; et al. La enfermedad de la bolsa de Fabricio (EIBF) por cepas de alta virulencia se propagan a Latinoamérica. **Avicultura Profesional (EUA)**, v. 17, n. 9, p. 15-18, 1999.

DOMINGUES, R. D.; LOUREIRO, F. C.; FORTES, F. B. B.; et al. Vigilância Ativa para Influenza Aviária e Doença de Newcastle em Aves Migratórias na Estação Ecológica do Taim em 2011. **Informativo Técnico DPA**, v. 3, n. 4, p. 1-4, 2012. Disponível em: <<https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201612/02101249-inftec-27-vigilancia-para-influenza-aviaria-e-causa-de-mortalidades-aviarias.pdf>> .

ECHENIQUE, J. V. Z.; SOARES, M. P.; ALBANO, A. P. N.; et al. Diseases of wild birds in southern Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 2, p. 121-128, 2020.

ETERRADOSSI, N.; SAIF, Y. M. Infectious bursal disease. In: SWAYNE, D. E.; GLISSON, J. R.; MCDUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SUAREZ, D. L.; NAIR, V. **Diseases of Poultry**. Iowa: Wiley-Blackwell, 2013. P. 219-246.

FONSECA, F.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; et al. Avaliação do uso de sangue em papel-filtro para detecção e quantificação de anticorpos para o vírus da doença de Newcastle. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 319-324, 2007.

FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Herpesviridae. In: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Editora da UFSM, 2007. P. 433-488.

HAQUE, M. H.; HOSSAIN, M. T.; ISLAM, M. T.; et al. Isolation and detection of newcastle disease virus from field outbreaks in broiler and layer chickens by reverse transcription-polymerase chain reaction. **Bangladesh Journal of Veterinary Medicine**, v. 8, n. 2, p. 87-92, 2010.

HIRSCHMANN, L. C.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; et al. Fatores de risco associados com a presença de infecções virais em aves domésticas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 47, n. 1642, p. 1-9, 2019.

HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 4, p. 639-659, 2004.

KALETA, E. F; DOCHERTY, D. E. Avian herpesvirus. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. **Infectious Diseases of Wild Birds**. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. P. 63-86.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Plano de Contingência para Influenza Aviária e Doença de Newcastle**. Brasília: Coordenação de Sanidade Avícola, 2013. 59p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/arquivos-das-publicacoes-de-saude-animal/plano-de-contingencia-versao-1_4.pdf/view> .

MORAES, H. L. S. **Doença Infeciosa Bursal: Estudo sobre amostras vacinais e de campo, imunidade materna e desafio com amostra muito virulenta do vírus**. Porto Alegre: UFRGS, 2004. 95p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004.

MURATA, S.; HAYASHI, Y.; KATO, A.; et al. Surveillance of Marek's disease virus in migratory and sedentary birds in Hokkaido, Japan. **The Veterinary Journal**, v. 192, n. 3, p. 538-540, 2012.

NANTHAKUMAR, T.; KATARIA, R. S; TIWARI, A. K.; et al. Pathotyping of Newcastle disease viruses by RT-PCR and restriction enzyme analysis. **Veterinary Research Communications**, v. 24, n. 4 p. 275-286, 2000.

OGAWA, M.; WAKUDA, T.; YAMAGUCHI, T.; et al. Seroprevalence of infectious bursal disease virus in free living wild birds in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 60, n. 11, p. 1277-1279, 1998.

OLIVEIRA JUNIOR, J. G.; PORTZ, C.; LOUREIRO, B. O.; et al. Serology for the Newcastle disease virus in non vaccinated birds in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 381-383, 2003.

REICHERT, L. J.; GOMES, M. C.; SCHWENGBER, J. E. Avaliação Técnica e Econômica de um Agroecossistema Familiar de Base Ecológica na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Current Agricultural Science and technology**, v. 17, n. 1-4, p. 123-132, 2011.

SADEGHI, M. R.; GHORASHI, S. A.; KARGAR MOAKHAR, R.; et al. Polymerase chain reaction for the detection and differentiation of Marek's disease virus strains MDV-1 and HVT. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 7, n. 1, p. 17-21, 2006.

SALLE, C. T. P.; MORAES, H. L. S. Prevenção de doenças, manejo profilático, monitoria. In:

BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FABIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das Aves**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009. P. 255-266.

SCAGION, G. P. **Detecção sorológica, molecular e caracterização dos Paramixovírus aviários do tipo 1 (classe I e classe II) em aves silvestres e sinantrópicas**. Campinas: UNICAMP, 2015. 109p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular), Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2015.

SILVA, J. S. A.; MOT, R. A.; VILELA, S. M. O.; et al. Newcastle disease virus infection in sparrows (*Passer domesticus*, Linnaeus, 1758) captured in poultry farms of the agreste region of the state of Pernambuco. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 8, n. 2, p. 125-129, 2006.

SILVA, P. L. Doença de Marek: neoplasia e imunossupressão. **Ceva World**, edição especial, p. 1-15, 2014. Disponível em:
<https://www.avisite.com.br/clipping/CevaWorld_02_Marek.pdf> .

SPACKMAN, E.; PEDERSEN, J. C.; MCKINLEY, E. T.; et al. Optimal specimen collection and transport methods for the detection of avian influenza virus and Newcastle disease virus. **BMC Veterinary Research**, v. 9, n. 35, p. 1-12, 2013.

THOMAZELLI, L. M.; ARAÚJO, J.; FERREIRA, C. S.; et al. Molecular Surveillance of the Newcastle Disease Virus in Domestic and Wild Birds on the Northeastern Coast and Amazon Biome of Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 14, n. 1, p. 01-07, 2012.

VARGAS, G. D.; FISHER, G.; HÜBNER, S.; et al. Ocorrência da Doença de Gumboro em Frangos de Corte no Sul do Brasil. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 20, 2007, Porto Alegre. **RESUMOS**. Porto Alegre: CLA, 2007. P. 191-193.

WEGE, D.; GOERCKE, J. M. Áreas importantes para a conservação das aves. In: BENCKE, G. A.; MAURÍCIO, G. N.; DEVELEY, P. F.; GOERCKE, J. M. **Áreas Importantes para a Conservação das Aves no Brasil. Parte I – Estados do Domínio da Mata Atlântica**. São Paulo: SAVE Brasil, 2006. P. 17-24.

WILCOX, G. E.; FLOWER, R. L. P.; BAXENDALE, W.; et al. Serological survey of wild birds in Australia for the prevalence of antibodies to egg drop syndrome 1976 (EDS-76) and infectious bursal disease viruses. **Avian Pathology**, v. 12, n. 1, p. 135-139, 1983.

ZABALETA, J. P. L.; GONÇALVES, M. C. Programa de avicultura colonial, **Avicultura Colonial - Embrapa Clima Temperado**, p. 1-2, 2009. Disponível em:
<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/32588/1/Programa.avicultura.colonial.pdf>> .

ZHU, G. S.; OJIMA, T.; HIRONAKA, T.; et al. Differentiation of oncogenic and non-oncogenic strains of Marek's disease virus type 1 by using polymerase chain reaction DNA amplification. **Avian Diseases**, v. 36, n. 3, p. 637-645, 1992.

Autor para correspondência:

Alice T. Meirelles Leite.

Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, UFPEL, Campus Universitário s/n. Prédio 1, Capão do Leão (RS), CEP 96010-900.

al_meirelles@hotmail.com