

XV Congresso APA - Produção e Comercialização de Ovos

Ribeirão Preto, SP - 21 a 23 de março de 2017

Estudo histopatológico e sorológico com vacina de imunocomplexo contra a doença de gumboro com cepa v877 em aves spf



Eduardo Correa Muniz¹, Renato Verdi¹, José Di Fabio², Edson Luiz Bordin²

¹Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda – São Paulo/Brasil

²JF Laboratório de Patologia Ltda – Campinas/Brasil

INTRODUÇÃO

As vacinas vivas do tipo imunocomplexo, são produzidas por mixagem em proporções bem definidas, de uma suspensão de um vírus da doença infecciosa da bursa (VDIB) atenuado, produzido em ovos embrionados com anticorpos específicos produzidos em aves livres de patógenos específicos (SPF) inoculadas com VDIB (Iván et al., 2005; Jeurissen et al., 1998). Esta tecnologia vem sendo amplamente adotada no mercado brasileiro pelo fato da vacina poder ser administrada no incubatório *in ovo* ou por aplicação subcutânea. O objetivo deste estudo foi o de investigar o efeito de uma nova vacina de imunocomplexo contra a DIB no sistema imune de poedeiras SPF por meio de sorologia e da histopatologia da bolsa de Fabricius.

MATERIAIS E MÉTODOS

A vacina utilizada neste estudo foi a Poulvac Magniplex, produzida pela Zoetis, composta pela cepa V877 combinada com antissor (anticorpos contra o VDIB).

Pintinhos oriundos de 300 ovos SPF foram divididos em 3 grupos. Após o nascimento, foram alojadas somente 75 aves por tratamento. Todos os ovos SPF usados neste experimento eram da linhagem White Leghorn e foram adquiridos da empresa Valo Biomedica. O experimento foi conduzido pelo Centro de Pesquisa em Animais do Brasil (CPABR), localizado em Amparo, São Paulo. Os pintinhos foram alojados em 3 salas isoladas por filtro de alta eficiência na separação de partículas e tiveram livre acesso à água e ração durante todo o período de criação.

Os tratamentos correspondiam a: T01 com 75 pintinhos não vacinados; T02 com 100 ovos vacinados *in ovo* aos 18 dias de incubação resultando em 75 pintinhos viáveis e; T03 com 75 pintinhos vacinados por via subcutânea no primeiro dia de vida. A cada semana, 6 aves de cada tratamento foram eutanaziadas e necropsiadas. As bursas de Fabricius foram coletadas sendo fixadas em formol 10%, processadas e coradas com Hematoxilina e Eosina para avaliação histopatológica (Cheville, 1997). Os parâmetros utilizados para caracterizar o nível de lesão do tecido bursal foram adaptados da escala de *Muskett* (Muskett et al., 1979). Além da análise histopatológica, 20 amostras de sangue foram coletadas de cada tratamento nas seguintes idades: 14, 21, 28, 35 e 42 dias. Análise das amostras foi realizada pelo kit ELISA para anticorpos para VDIB.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 e 2 demonstram os resultados médios da análise histológica e sorológica em cada ponto de coleta nos diferentes tratamentos.

Tabela 1 - Análise histológica das bursas em aves SPF nas diferentes idades do experimento (escore médio de *Muskett*)

Grupos	7d	14d	21d	28d	35d	42d
T01	0.6 ^a	1.0 ^a	0.0 ^a	1.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
T02	1.4 ^b	2.0 ^b	2.0 ^b	1.7 ^b	2.0 ^b	2.0 ^b
T03	2.0 ^b	2.0 ^b	1.8 ^b	2.4 ^b	2.0 ^b	1.8 ^b

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha e coluna são significativamente diferentes ($p < 0.05$) de acordo com o teste de Kruskal Wallis.

A análise histopatológica em aves SPF demonstrou o efeito da cepa vacinal no parênquima da bursa ao longo do tempo, onde em todas as avaliações o escore de *Muskett* diferiu significativamente do grupo controle não vacinado. Pelo fato das aves não possuírem anticorpos passivos, este efeito já foi visível aos 14 dias de idade e ao longo do tempo sua intensidade pode ser considerada moderada e compatível com o comportamento já conhecido da cepa V877 (Geerlings et al., 2014). Uma característica importante dentro dos vários parâmetros de escolha de um vírus atenuado para compor uma vacina contra a

DIB é o mesmo apresentar imunogenicidade sem produzir lesões severas no parênquima da Bursa (Aihara et al., 2015). Os resultados da análise histopatológica em aves SPF demonstraram que a vacina de imunocomplexo testada apresentou esta característica, sendo que o escore médio mais alto encontrado foi de 2,4 aos 28 dias no grupo vacinado por via subcutânea. Além disso, nas avaliações subsequentes deste mesmo tratamento, nos 35 e 42 dias, o escore médio apresentou clara tendência de redução para 2,0 e 1,8, indicando a capacidade regenerativa dos folículos linfoides após o efeito da estirpe vacinal (Iván, 2001).

Tabela 2 - Análise sorológica em aves SPF nas diferentes idades do experimento (títulos de ELISA – kit Idexx)

Grupos	14d	21d	28d	35d	42d
T01	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T02	663	1.329	1.791	1.233	1.583
T03	1 116	2 004	1 862	3.336	2.959

A soroconversão observada nos tratamentos com aves vacinadas (T02 e T03) mostrou o efeito da vacinação nas aves SPF sem qualquer interferência com anticorpos maternos. Logo, já aos 14 dias de idade foi detectada presença de títulos nos dois grupos de aves vacinadas, tanto por via *in ovo* como por via subcutânea. Com a ausência de títulos de anticorpos no grupo controle em todas as idades analisadas durante o experimento, pode ser concluído que houve bom controle da contaminação cruzada entre os tratamentos e as aves do grupo T01 não tiveram contato com a vacina ou tampouco com qualquer eventual desafio ambiental pelo VDIB que pudesse estar presente.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que a vacina de imunocomplexo com a cepa V877 é bastante segura mesmo em aves SPF da linhagem White Leghorn onde não havia participação dos anticorpos maternos. Esta característica parece estar ligada a um padrão molecular único desta estirpe vacinal. O fato da vacina de imunocomplexo com a cepa V877 também apresentar moderada invasividade e permitir a regeneração do tecido linfóide após o efeito da vacinação, faz com que esta tecnologia seja disponibilizada para aves poedeiras onde anteriormente não havia possibilidades de uso desta categoria de vacina contra a DIB exceto as vetorizadas ou mesmo as vacinas tradicionais via água de bebida. Isso representa um avanço no que diz respeito ao controle da DIB em poedeiras, pois agora o produtor conta com mais uma opção tecnológica para controlar esta importante enfermidade viral.

BIBLIOGRAFIA

- AJHARA, N., HOIUCHI, N., NIKICHI, N., et al. Immunoreactivity and morphology changes of bursal follicles in chicken infected with vaccine or wild-type strains of the infectious bursal disease virus. *Avian Pathology*, London, v. 77, n. 8, p. 913-918, 2015.
- CHEVILLE, N. F. Studies on the pathogenesis of the IBD in the bursa of Fabricius, spleen, and thymus of the chicken. *American Journal of Pathology*, v. 51, n. 4, p. 527-551, 1997.
- GEERLINGS, H.J., ONS, E., BOELM, G.J., et al. Efficacy, Safety and Interactions of a Live Infectious Bursal Disease Virus Vaccine for Chickens Based on Strain IBD V877. *Avian Diseases*, v. 59, p. 114-121, 2015.
- IVÁN, J., NAGY, N., MAGYAR, A., et al. Functional restoration of bursa of Fabricius following *in ovo* infectious bursal disease vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 79, p. 235-248, 2001.
- IVÁN, J., VELHNER, M., URSU, K., et al. Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with an immune complex infectious bursal disease vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 69, p.135-142, 2005.
- JEURISSEN, S. H. M., JANSE, E. M., LEHRBACH, P. R., et al. The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immunology*, v. 95, p.494-500, 1998.
- MUSKETT, J. C., HOPKINS, I. G., EDWARDS K. P., et al. Comparison of two infectious bursal disease vaccine strains: Efficacy and potential hazards in susceptible and maternally immune birds. *Veterinary Record*, v.104, p.332-334, 1979.