

PROTEÇÃO VACINAL CONTRA DESAFIO COM “VARIANTE” DE BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS

IM Trevisol¹, CH Okino¹, MAZ Mores¹, GLM Mattos¹, L Brentano¹, PA Esteves¹

¹Embrapa Suínos e Aves - Laboratórios de Sanidade e Genética Animal - Concórdia – SC - Brasil

Introdução

A bronquite infecciosa das galinhas (BI) continua sendo uma das principais enfermidades com perdas econômicas na produção industrial de aves. Esta enfermidade manifesta-se nas formas respiratória, renal, e reprodutiva e é controlada com vacinas vivas atenuadas e inativadas. A elevada frequência de mutações no genoma do vírus da BI (RNA não segmentado, fita simples) incide no surgimento de novos sorotipos ou genótipos virais (variantes) e em diferentes manifestações clínicas da doença. A ocorrência de surtos de BI em lotes imunizados tem sido frequentemente associada à ausência de proteção cruzada conferida pela vacina utilizada (H120) frente a variantes e discute-se a necessidade de introdução de novas estirpes virais na formulação de vacinas (3;5). O agrupamento das estirpes virais em protectotipos apresenta-se extremamente útil, do ponto de vista prático, uma vez que providencia informações diretas sobre a eficácia de uma vacina: estirpes que induzem proteção entre si pertencem ao mesmo protectotipo. A Embrapa Suínos e Aves têm realizado estudos de protectotipagem e até o momento, quatro estirpes previamente classificadas como variantes foram agrupadas no mesmo protectotipo da estirpe vacinal sorotipo Massachusetts (3;4). Neste estudo, uma nova variante do VBI foi avaliada frente à estirpe vacinal Massachusetts, único sorotipo disponível para uso no Brasil, como vacina viva atenuada.

Material e Métodos

Preparo e seleção da estirpe de desafio: pulmões de um caso clínico de BI em frangos de corte com 33 dias de idade (estirpe F3735) foram triturados, diluídos e tratados com *pool* de antibióticos. O material foi inoculado em oito embriões SPF (*Specific Pathogen Free*) e mantidos a 37°C: quatro foram resfriados após 48-72 horas para colheita de líquido corioalantoide (LCA-passagem1=p1) para realizar novas passagens em embriões. Outros quatro embriões foram mantidos por 7 dias em incubação para verificar a possível presença de contaminação por estirpe vacinal. Esta, por já estar adaptada a embriões de galinha, mostra efeito de replicação do vírus na primeira passagem; enquanto estirpes de campo, ainda não adaptadas a este substrato, não demonstram efeitos de alterações embrionárias características do VBI antes de mínimo 3 passagens cegas de 72hs. O LCA-p1 de 7 dias também foi submetido ao teste de Hemaglutinação (HA) e RT-qPCR/NC para detecção de possível contaminação por vírus da doença de Newcastle (NC). Após 6p, evidenciou-se lesões sugestivas de VBI nos embriões. Realizou-se a p7 para obtermos volume suficiente para ensaios de proteção. A estirpe foi analisada por RT-PCR e caracterizada filogeneticamente como variante através do sequenciamento do gene S1.

Delineamento experimental: 27 aves SPF foram aleatoriamente divididas em 3 grupos de 9 animais (G1, G2 e G3), mantidas em unidades isoladoras com ar filtrado e pressão positiva. No primeiro dia de idade, as aves do G1 receberam uma dose de vacina comercial H120, diluída conforme orientações do fabricante, via óculo-nasal. Aos 28 dias de idade, as aves dos grupos

G1 e G2 foram desafiadas com a estirpe F3735 previamente titulada e diluída para uma dose infectante de $10^{4,0}$ DIE₅₀/ave. No 5º dia pós-desafio, as aves foram eutanasiadas e porções proximal, média e distal das traqueias foram colhidas para avaliação da atividade ciliar (2; 5), recuperação viral e quantificação viral por PCR em tempo real e em formol a 10% para análise histopatológica.

Avaliação da taxa de proteção: definida através da porcentagem de proteção relativa - PPR- calculada com os valores percentuais de aves com ciliostase em relação aos controles (3) e conforme orientações da OIE para testes de eficácia de vacinas vivas (1).

Resultados e Discussão

A estirpe F3735 mostrou-se altamente patogênica para o sistema respiratório superior, uma vez que 89% das aves desafiadas mostraram graus de lesão ciliar severa (7 aves em 8) e moderada (1 ave em 8) - tabela 1. O valor de PPR para a estirpe F3735 foi de 87,6% e o percentual absoluto de proteção foi de 89%. Para a OIE, no mínimo 90% das aves vacinadas e desafiadas devem estar protegidas para que a vacina seja considerada eficaz e, as aves somente desafiadas devem apresentar um índice de 90% de lesão. Neste estudo, encontramos índices de 89% para os dois critérios citados pela OIE. Ao calcularmos o PPR conforme Picault (2003), o índice de proteção encontrado é “substantial” conforme expressão utilizada pelo autor quando índices iguais ou maiores que 80% são encontrados. Dados complementares de lesões microscópicas, recuperação viral e quantificação viral por PCR em tempo real, serão importantes para concluir este estudo.

Tabela 1: Avaliação da ciliostase no epitélio traqueal.

Tratamentos	Nº de aves com ciliostase/total	% de ciliostase
G1 - V/D am. F3735	01/09	11,0
G2 - NV/D am. F3735	08/09	89,0
G3 - NV/ND	00/09	0,0

V: vacinado; D: desafiado; NV: não vacinado; ND: não desafiado.

Conclusões

Os resultados obtidos até o momento sugerem que a estirpe F3735 pertence ao mesmo protectotipo da vacina H120 sorotipo Massachusetts.

Uma dose de vacina comercial H120 administrada no primeiro dia de idade, foi capaz de induzir proteção contra desafio com a estirpe F3735.

Estes resultados reforçam a importância dos testes de protectotipagem para a classificação de novas amostras e para a tomada de decisões e elaboração de estratégias de controle dessa enfermidade.

Bibliografia

- OIE Terrestrial Manual 2008; chapter 2.3.2: 443-455.
- Picault, J.P. *et al.* World Poultry, 19 (3): 34-36, 2003.
- Trevisol *et al.* Anais do Prêmio Lamas, 2011
- Trevisol *et al.* World Poultry Congress, 2012.
- Wang, C.H. *et al.* Avian Disease, 40: 620-625, 1996.