



ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

Conferencia:	Programas de vacunación para la prevención de procesos respiratorios relacionados a bronquitis infecciosa y metapneumovirus
Fecha:	Viernes 12 de Mayo
Hora:	14.30 – 15.30 p.m.
Expositor:	Dr. José Di Fabio

O Virus x revisao da Classificacao

As amostras do vírus de BI podem ser classificadas através dos diferentes sistemas sorológicos, como virusneutralização, anéis de traquéia, anticorpos monoclonais, HI, PCR ou Sequenciamento

Inicialmente as cepas variantes eram bem distintas dos sorotipos conhecidos. A capacidade de mutação e recombinação do vírus, além da pressão de seleção através do uso prolongado de vacinas vivas, contribuiu para o aparecimento através dos anos, de uma grande variedade de sorotipos e subtipos.

PATOTIPOS

Uma classificação são os patotipos, ou seja, as amostras são classificadas segundo os órgãos mais lesados pelo vírus. Em média, dois ou mais sistemas são afetados, já que as amostras têm diferenças entre elas com relação à virulência e ao tropismo. A variação nos sorotipos deve-se a variações na seqüência do gene S1, localizadas nas regiões chamadas de hipervariáveis.

SOROTIPOS CLASSICOS

Muitos sorotipos são conhecidos e têm um significado prático para o seu controle, devido ao fato de a imunidade a uma infecção ou à vacinação estar relacionada ao sorotipo e não ter reação cruzada com outro sorotipo. Os mais conhecidos são os relacionados abaixo. Outras variantes antigênicas têm sido relatadas. Dentre as identificadas temos:

1- BEAUDETTE 66579: também conhecida por "Beaudette embryo lethal". Considerada como uma cepa mutante derivada da cepa Massachussetts. Em ovos férteis mata os embriões em 48 horas, sendo apatogênica para aves. É uma amostra usada como antígeno no teste de virusneutralização. Possui reação homóloga somente com o sorotipo Mass.

2- MASSACHUSSETTS 82828: também conhecida como M41, IBV41 e VR21. Primeiro sorotipo a ser descrito. Acomete trato respiratório, reprodutivo e em menor grau o urinário. Altamente patogênica para o sistema reprodutivo de fêmeas, mas não para o trato urinário, mesmo estando presente em casos agudos de infecção.





ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

3- CONNECTICUT: também chamada de IBV46, VR817. É a primeira descrição de sorotipo diferente do Mass, não tendo reação cruzada com este. Também acomete o trato respiratório, porém é tida como menos patogênica do que esta. Apresenta as mesmas alterações microscópicas do que a Mass. Não são relatadas infecções no trato genito-urinário.

4- AMOSTRAS NEFROTRÓPICAS: as amostras pertencentes a este grupo são Gray and Holte, isoladas nos EUA e Holland (H). Esta última tem sua patogenicidade diminuída quando inoculada sucessivamente em ovos embrionados, o que permite sua aplicação em vacinas. Não perde no entanto, a afinidade pelo tecido renal. Nela identificam-se a H52 e H120, que fazem referência ao número de passagens em OE.

5- ARKANSAS: variante antigênica. Acomete trato respiratório e reprodutivo. Não relata infecção no trato urinário.;Detectada pela primeira vez,nos Estados Unidos.

6 – Amostras Europeias : as mais populares ,sao as amostras Holandesas D-274 e 1466,caracterizadas nos anos 80;foram produzidas vacinas especificas para estes sorotipos.Mais recentemente, o Patotipo responsavel pela Necrose peitoral ,foi identificado como uma amostra variante, denominada 793 – B; vacinas foram produzidas para este Sorotipo e estao sendo utilizadas.

:GENOTIPAGEM

A Genotipagem tem sido uma importante ferramenta para detectar as variacoes virais,durante um espaco de tempo, no seu genoma ,atraves da identificacao de regioes conservadas ou hipervariaveis das proteínas do virus da BI,numa Empresa, Regiao,Estado ou Pais.

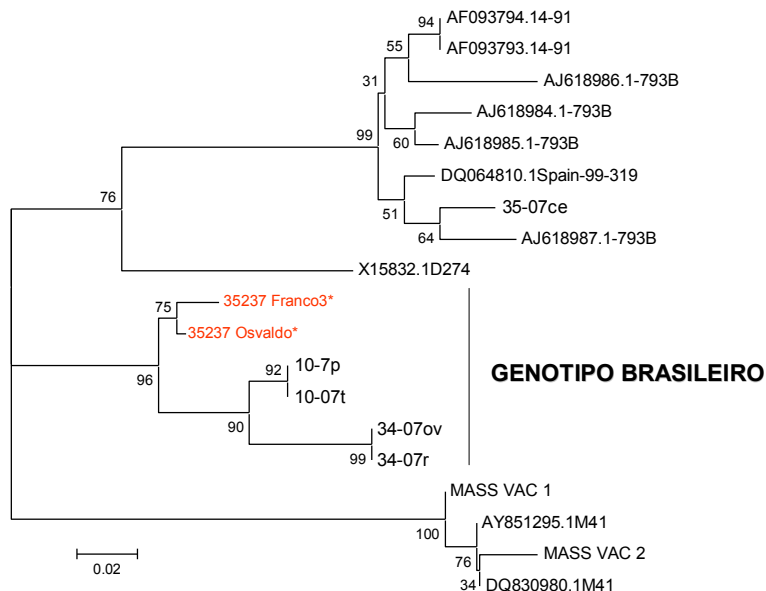
A melhoria da metodologia permite que possamos diferenciar cepas vacinais(H120) de cepas de campo e ai' identificar melhor o virus envolvido no quadro clinico ou medir a eficiencia vacinal. A Genotipagem tem permitido a descoberta de muitas cepas “variantes moleculares” ao redor do mundo e no Brasil, não tem sido diferente;



ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

Sequenciamento

O sequenciamento das cepas Brasileiras ,tem mostrado a distancia que separa estas cepas ,das cepas vacinais como no slide abaixo;faltam ainda estudos de proteção in vivo para confirmar estes achados.



* Co-infecção com Mass

VARIANTES

O aparecimento de variantes decorre de alguns fenomenos importantes como erros na replicagem do virus ou atraves de pressao de selecao entre a cepa vacinal e a cepa de campo,produzindo uma terceira cepa distinta. Felizmente a maioria das cepas oriundas de erros de replicagem nao se perpetuam na natureza e nao tem poder infectante.Outras, tem poder infectante tao baixo,que nao apresentam sinais clinicos,sendo descobertas apenas em monitorias sorologicas ou provas moleculares.As amostras mais “exitosas” sao as mais recentes e aquelas que tem um poder infectante tao alto, que conseguem se replicar e vencer a barreira imunitaria.Nas aves de vida longa estas verdadeiras variantes, tem mais chance de aparecer e causar consideraveis perdas economicas.





ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

Não existe correlação entre sorotipo e patotipo, podendo estes, por vêzes, serem sorologicamente distintos entre si. A imunidade cruzada produzida por alguns sorotipos do vírus de BI contra cepas antigenicamente distintas é conhecida e graças a isto, ainda temos uma boa eficiência vacinal contra a maioria dos surtos causados por este vírus. Por outro lado, não existem ainda, estudos suficientes, que comprovem que uma amostra ou combinação de amostras vacinais de diferentes sorotipos, produzam uma proteção, cruzada completa contra algumas variantes emergentes, encontradas no Brasil, principalmente em Poedeiras comerciais..

Alguns trabalhos sugerem a possibilidade de uma nova classificação do vírus, não em sorotipos, mas em **Protectotipos**. Estes seriam amostras de vírus capazes de, através do teste de imunidade cruzada em anéis de traquéia ou aves SPF, conferir proteção contra sorotipos do mesmo grupo ou de grupos sorologicamente distintos. Essa idéia provém do fato que, somente algumas alterações de aminoácidos na glicoproteína S pode gerar o aparecimento de um novo sorotipo de BI. Portanto, a maior parte da estrutura viral permanece inalterada acarretando em reações cruzadas entre os sorotipos.

Uma avaliação prática da ocorrência desta reação cruzada pode ser feita através do **teste de ciliostase em anel traqueal** e recuperação do vírus a partir de aves vacinadas e posteriormente desafiadas com um vírus de BI. Pelo teste de anel traqueal a persistência do movimento ciliar comprova identidade entre as amostras virais.

Isto poderia reduzir significativamente o grande número de sorotipos, subtipos, agrupando-os em número muito menor. Há estreita correlação do teste "in vitro" e experimental "in vivo": (aves SPF), com imunoprofilaxia dos plantéis no campo permitindo uma melhor eficiência dos programas vacinais elaborados a partir deste sistema (produção de vacinas autógenas, p.ex)

No Brasil, desde os anos 80, já se tinha uma perfeita percepção que existiam variantes (1987, Di Fábio, comunicação verbal). Em 1992, Wentz demonstrou por Soroneutralização cruzada que haviam cepas mais distantes sorologicamente, das cepas tipo Mass. Nos anos 90, ainda Martins, trabalhando com Anéis de Traquéia também encontrou cepas em Minas Gerais, distintas das cepas tipo Mass. O encontro de variantes moleculares é muito comum, mas não significa necessariamente que a cepa encontrada seja uma variante "verdadeira".

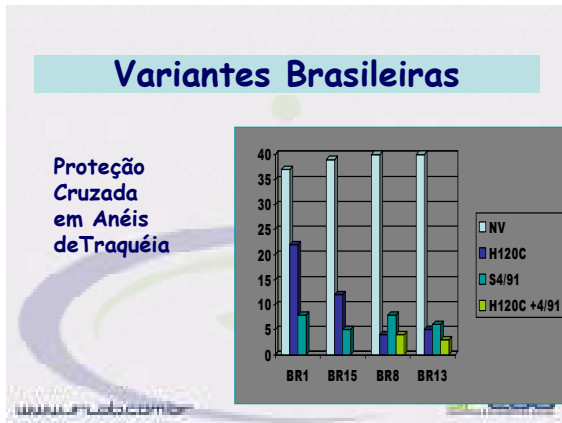


ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

Testes Sorológicos como Soroneutralização cruzada realizados em ovos, Cultura de Células ou Anéis de Traquéia .mais os Protectotipos ainda definem melhor o conceito de Variantes. Em 1995, realizamos 15 isolamentos em 126 lotes de aves ,principalmente nos Estados do Paraná e São Paulo(Di Fabio, Avian Diseases, 44, 582-589, 2000). Os lotes afetados experimentaram uma série de sinais clínicos similares à BI, como Enfermidade Respiratória, Problemas digestivos, Problemas renais, e quedas de Produção. Uma das cepas foi correspondeu ao Grupo Massachussetts .As outras cepas foram examinadas por meio da prova de Neutralização cruzada em anéis de Traquéia, o que indicou que pertenciam pelo menos à 4 grupos antigênicos diferentes dos outros Países, que por isso foram chamadas de Br(8, 11, 12, 13). Alguns dos lotes tinham sido vacinados com Cepa Mass ,Estudos de proteção mostraram que as cepas vacinais tipo Mass, protegiam bem contra estas cepas variantes. Este estudo então demonstrou que a necessidade de uma nova vacina, com cepas variantes, passa necessariamente por este tipo de avaliação, pois apesar da comprovação sorológica, as vacinas tipo Mass, foram bem efetivas na proteção. Outros estudos demonstraram também, que a possibilidade do aparecimento de variantes é muito mais alta em plantéis de vida longa ,como Reprodutoras e Poedeiras, do que em Frangos de corte, pelo maior tempo de contato entre o vírus e o hospedeiro, múltiplas idades e uma maior possibilidade de erros na replicação viral do genoma (mutantes); assim na região hipervariável (S1), o aparecimento de mutações antigênicas no gen S é grande e pode levar a emergência de novos sorotipos. Felizmente, grande maioria dos novos vírus advindos dessas mutações não consegue se replicar e desaparece naturalmente dos plantéis. Uma outra possibilidade importante do aparecimento de variantes é o fenômeno da Retropassagem ou a reação rotativa prolongada que se verifica em lotes mal vacinados ou quando se interrompe a vacinação em um Granja ou Região. O caso mais recente é um novo Patotipo (Necrose do músculo do Peito), descrito em algumas regiões do País e que foi estudado e pesquisado para ser classificado como cepa variante, mas que, até o momento foi detectado como amostra clássica. Algumas vacinas tem uma população viral heterogênea com uma pequena parte de sua população, composta por cepas mais virulentas. Assim, quando do fenômeno da Retropassagem ou reação "rolante" a tendência desta população é aumentar de ave para ave, aumentando o grau de reação ,com reversão da virulência e causando a Doença. Neste caso, também aumenta a possibilidade do aparecimento de variantes sorológicas.. Nos últimos anos, a genotipagem tem sido muito utilizada ,particularmente para identificar novos patotipos, respiratórios, Necrose peitoral, entericos e sistema reprodutivo de machos matrizes Arns, Brentano, Villareal ,respectivamente)



ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES



IBV: %PROTEÇÃO CRUZADA

VACINA DESAFIO	MASS - HOLLAND	MASS + CONN	MASS + ARK	MASS - CONNAUGHT
M - C - JMK HOLTE FLORIDA	84%	93%	87%	100%
4VAR. POEDEIRA	45 %	20%	71%	55%
6VAR. FRANGOS	93%	100%	80%	80%

Fonte; Di Fabio 2000

Fonte;deptoagricultura USA 2005

Amostras mais frequentemente descritas no Brasil

Praticamente desde os anos 70, novas amostras do vírus tem sido descritas no Brasil, ou sob a forma de Patotipos, ou sorotipos descritos por Soroneutralização em ovos, cultura de células ou em anéis de traqueia. Mais recentemente, variantes moleculares começaram a ser descritas em surtos respiratórios, renais, sistema reprodutivo e trato entérico. Vamos aqui descrever, de forma resumida os achados brasileiros, suas consequências e seu possível controle.

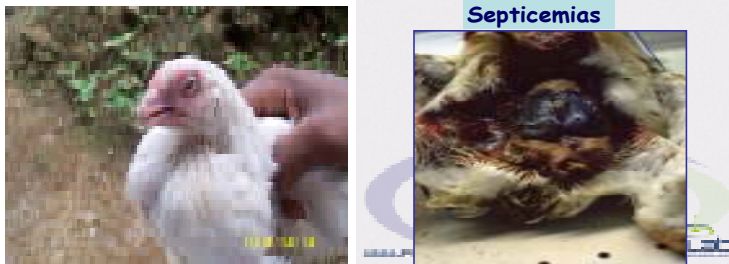
A – Patotipos respiratórios; foram definidos como novos sorotipos, nos estados de São Paulo, Paraná, e nos estados do Nordeste, a partir do ano de 1995.; os últimos surtos respiratórios de 2006 – 2007, nos comprovaram por exames de PCR e sequenciamento, que outras variantes moleculares estão atuando e rompendo as barreiras de proteção dadas pelas cepas vacinais do grupo MASS (H-120).





ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

EM frangos de corte, com sinais clínicos persistentes que passam de lote a lote ou em granjas de postura comercial, com sinais clínicos respiratórios reprodutivo e mortalidade, além de alteração morfológica da casca (casca fina).



B – Patotipos renais tem sido menos relatados, nos últimos anos; são descritos, fazendo parte de quadros respiratórios em frangos de corte ou poedeiras comerciais. As cepas isoladas até agora foram classificadas como grupo MASS ou cepas variantes sorológicas em frangos de corte, em testes de proteção em anéis de traquéia (Protectotipos); em poedeiras comerciais, estas amostras clássicas ou variantes tem sido encontradas em aves em produção, fazendo parte de Patotipos originalmente respiratórios e reprodutivos, numa Síndrome Respiratória/reprodutiva, multifatorial com diferentes sinais clínicos como queda de postura, alteração da casca dos ovos (cascas mais finas), mortalidade (Colibacilose), diarreias (urolitíase) e outros agentes, principalmente os Metapneumovirus.

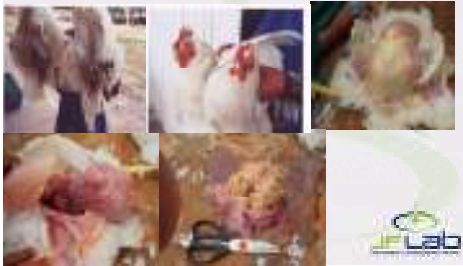


C – Patotipos do Sistema Reprodutivo – esta muito bem definida, até pelo próprio tropismo do vírus, a participação quase absoluta, na severidade das lesões, de quadros virais primários, neste sistema, dos vírus da BI. Inúmeras cepas tem sido descritas no Brasil, tanto clássicas, como variantes sorológicas ou moleculares. Ultimamente estes quadros tem aumentado em frequência e severidade dos quadros clínicos, A detecção de amostras causando quadros inflamatórios severos no sistema reprodutivo masculino de machos reprodutores, foi um achado Patológico pioneiro, demonstrando que, quadros clínicos de infertilidade eram devido a ação do vírus nos testículos (Villareal).



ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

Salpingites



ALTERAÇÕES NOS OVOS



D – Patotipos do Sistema Entérico – Eu já tinha observado nos anos 1985 – 1987 , quadros clínicos em Reprodutoras leves , de Diarréias severas no início de produção,acompanhadas de Urolitíase;naquele momento,optamos por trocar a vacina H120 por H52, as 15 semanas de idade,por que não se utilizava, nesta época,na empresa,vacinas inativadas;aparentemente, o quadro clinico diminuiu,naquela ocasião.Atualmente se detectou em pintos com problemas de desuniformidade e refugagem, amostras variantes moleculares,no trato entérico(Villareal);estas amostras continuam sendo detectadas por nos,também(JFLAB,2007);não se sabe ainda o impacto desta descoberta,dentro da Síndrome de Ma' Absorção,que 'e sabidamente multifatorial,mas sem duvida e' mais um agente a` ser pesquisado,neste quadro Patológico inicial de pintos ;normalmente ,se inicia entre 4 e 7 dias de idade,com diarréia,pintos helicópteros,intestinos pálidos,e, aberração de apetite,com consumo de cama e seleção de milho da ração. :



ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES



E – Necrose Peitoral profunda – Este Patotipo foi descrito há alguns anos atrás, inicialmente em aves reprodutoras, causando lesões renais e necrose no músculo peitoral profundo; não se conseguiu provar que, no Brasil, era uma amostra variante. Com programas vacinais mais eficientes, este quadro Patológico tem diminuído a sua frequência, até' este momento.



Fotos: P.Raffi.



ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

COMO SABER SE EXISTEM VARIANTES:

- a – Performance x Sinais Clínicos x Programa Vacinal.
- b – Sorologia
- c -Isolamento e Caracterização (Ovos,Cultura celular,Anéis de Traquéia, PCR,sequenciamento)
- d – Tipificação;AA monoclonais(difícilnoBrasil),Soroneutralização,celulas,aneis de traqueia, PCR ,Protectotipos,sequenciamento .

O QUE FAZER? POR QUE VACINAR AVES CONTRA BIG?

Na moderna avicultura industrial, a decisao de vacinar ou não as aves contra BIG, tem se tornado mais precisa, a partir do momento que temos mais ferramentas de diagnostico para determinar o real impacto ou não do problema nos nossos plnatéis.A Biologia molecular tem sido uma ferramenta bastante utilizada,pela sua segurança,especificidade e rapidez,mas tem que ser muito bem interpretada e não ser encarada como a unica forma de definir um problema e uma solução,em processos patologicos que determinem prejuizos economicos em planteís avícolas. Os classicos metodos de monitoria e diagnostico ,como sorologia, histopatologia , isolamento , anés de traqueia e testes “in vivo” tem que ser sempre considerados num diagnostico final e numa decisao de programa vacinal.Decidido isso, vamos avaliar em que situações vamos implementar um programa de vacinação eficiente:

VACINA	VIA DE ADM	Tipo Imunidade envolvida		
Vivas	Ocular/spray	IC – IL - IH		
vivas	agua	IC – IH		
Inativadas	injetavel	IH		
AA Maternos		IH(?)		

IC – Imunidade de base celular IH – Imunidade humoral IL – imunidade local ou de mucosa

Tipos de vacinas no Brasil

1 – Vacinas vivas – somente do grupo Mass

2 – Inativadas – Grupo Mass – Arkansas – D274.





ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

Programas vacinais; 100% das granjas de postura e reprodutoras vacinam contra BIG; mais de 70% dos frangos de corte são vacinados com pelo menos 1 dose no incubatorio.

1 – Broilers – 1 vacina viva no incubatorio

- Áreas de risco – 1 segunda dose entre 10 – 18 dias de idade

2 - Poedeiras e Reprodutoras

Duas a 3 doses vivas na recria + 1 oleosa associada e a cada 4 – 8 semanas na produção.

RESUMO;quando a doença esta diagnosticada :

A – Dose Vacinal mínima protetora

B –Bom Manejo de aplicação para evitar Retropassagem vacinal e que propiciem um aumento de imunidade

C – Cuidar do bom funcionamento do Sistema Imunológico.

D – Em casos de baixa eficiencia ,a elaboração de Auto Vacinas Inativadas regionais,me parece um bom caminho,desde que as aves mais sujeitas a variantes ,são as aves de vida longa.Outra possibilidade e' a utilização de cepas “estrangeiras” em vacinas inativadas,desde que previamente comprovada a sua eficiência nas amostras variantes brasileiras.Um estudo conduzido entre as empresas privadas e os órgãos públicos,poderia investigar a possibilidade de se desenvolver uma vacina(s) nacional viva e inativada,como já fizeram outros Países,com Avicultura industrial,tão avançada,como a nossa e muito tempo atrás

(USA,Holanda,Alemanha,etc)

TESTES DE PROTECAO :Testes “In VIVO” e Teste de Ciliostase em Anéis de Traquéia.

Dentre as inúmeras provas para se identificar possíveis variantes e tentar controla-las,nada se aproxima mais da realidade do campo que as provas “ in vivo” utilizando baterias de aves SPF,onde se inocula o vírus “ variante” em aves previamente vacinadas e se avalia o grau de proteção da vacina;o problema e' que e' um teste caro,trabalhoso que exige instalações especiais e dificilmente poderia ser usado como rotina,nas nossas condições atuais.



ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN AVES

Por outro lado o teste de ciliostase em anéis de traqueia, faz uma perfeita ponte entre o “in vivo” com o “in vitro” porque utiliza o principal substrato de replicação primária do vírus nas aves, a traquéia; exige equipamento especial, mas pode ser realizado em condições menos exigentes, num laboratório de Patologia avícola, Institutos e Universidades; é relativamente barato e rápido e nos dá informações importantes sobre novos vírus e grau de proteção de programas e vacinas.

Bibliografia consultada; Com o autor: difabio@jflab.com.br.