

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**DOENÇA INFECCIOSA BURSAL: AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE
VACINAS COMERCIALIZADAS NO BRASIL EM AVES LIVRES DE
PATÓGENOS ESPECÍFICOS**

Adriana Padilha de Padilha

Porto Alegre

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**DOENÇA INFECCIOSA BURSAL: AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE
VACINAS COMERCIALIZADAS NO BRASIL EM AVES LIVRES DE
PATÓGENOS ESPECÍFICOS**

Autora: Adriana Padilha de Padilha

Orientador: Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle

Co-orientador: Dr. Hamilton Luiz de Souza Moraes

**Dissertação apresentada à Comissão
de pós-graduação em Ciências
Veterinárias como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em
Ciências Veterinárias**

Porto Alegre

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**DOENÇA DE INFECCIOSA BURSAL: AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE
DE VACINAS COMERCIALIZADAS NO BRASIL EM AVES LIVRES DE
PATÓGENOS ESPECÍFICOS**

Adriana Padilha de Padilha

Membros da Comissão

Assinatura

- 1.**
- 2.**
- 3.**
- 4.**

Porto Alegre

2005

DEDICATÓRIA

**Aos meus pais, meus principais
incentivadores.**

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle, meu professor, amigo e conselheiro;

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Hamilton Luiz de Souza Moraes pela dedicação e confiança;

Ao Zico, exemplo de profissional, que não mede esforços para resolver todo e qualquer problema que venha dificultar a realização das atividades do CDPA;

Ao Silvio pela amizade e constante colaboração;

Ao Omar pela alegria e cumplicidade;

À colega Ana Cristina pela disponibilidade em auxiliar a todos que a procuram;

À colega Denise pelas oportunidades de aprendizado;

Aos colegas Lucas, Guilherme, Jairo, Luciane, Anderlise, Aldemir, Cristiana, Simone, Laurício e Josiane pelo companheirismo e por todos os momentos felizes que me proporcionaram. Vocês farão muita falta;

A Altech Comércio e Importação pela fundamental cooperação na realização deste trabalho;

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 A doença.....	12
2.1.1 A imunodepressão.....	14
2.1.2 A lesão da bolsa.....	17
2.2 Breve histórico das vacinas.....	17
2.3 Vacinas: proteção x desafio.....	19
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4 RESULTADOS.....	27
5 DISCUSSÃO	31
6 CONCLUSÕES.....	35
7REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

RESUMO:

A doença infecciosa bursal (DIB) é uma enfermidade viral, que acomete galinhas provocando imunodepressão sendo, economicamente, importante para a indústria avícola. O controle da DIB é realizado através de diferentes vacinas assim como programas de vacinação. No presente trabalho, a patogenicidade de três vacinas intermediárias (I1, I2 e I3), duas intermediárias mais patogênicas (IP1, IP2) e três vacinas contendo vírus forte (F1, F2 e F3) foi avaliada. Aves vacinadas com IP1, IP2, F1, F2 e F3 apresentaram tamanho da bolsa de Fabrício, significativamente, menor em relação ao grupo controle e aos animais vacinados com I1, I2 e I3. Por outro lado, a vacina I3 produziu título de anticorpos semelhante ao grupo controle diferindo de todas as demais vacinas. Porém I1 e I2 induziram títulos de anticorpos maiores que o grupo controle, sendo que I1 promoveu a formação de título de anticorpos semelhante à IP1, IP2, F1, F2 e F3. Os escores de lesão histopatológica mostraram que I1, I2 e I3 induziram graus similares de lesão da bolsa, sendo que I2 e I3 não diferiram do grupo controle, enquanto I1 apresentou diferença. As vacinas intermediárias mais patogênicas, assim como as vacinas “fortes“ promoveram escores de lesão, significativamente, maiores que as demais vacinas testadas. Esses resultados sugerem que as vacinas intermediárias mais patogênicas e as vacinas “fortes“ são capazes de causar severos danos na bolsa de Fabrício. Também foi possível inferir que a bursometria pode ser inadequada para a avaliação vacinal, porém pode ser utilizada na escolha da vacina para programas de vacinação. Além disso, observou-se que as vacinas “fortes“ induziram a formação de títulos de anticorpos mais altos que as demais vacinas, porém algumas vacinas intermediárias são capazes de promover títulos semelhantes.

Palavras-chave: Doença infecciosa da bolsa, bolsa de Fabrício, lesão, vacinas, imunodepressão.

ABSTRACT

Infectious bursal disease (IBD) is a chicken disease economically important for the poultry industry in function of the immune depression that it causes. Disease control is made with different vaccines and vaccination programs. In present work, the pathogenicity of 3 intermediate vaccines (I1, I2 and I3), 2 intermediate more pathogenic (IP1 and IP2) and 3 vaccines containing strong virus (F1,F2 and F3) was evaluated. Birds vaccinated with IP1, IP2, F1, F2 and F3 showed significantly lower bursa size in relation to control animals and animals vaccinated with I1, I2 and I3. On other hand, the vaccine I3 induced antibody titers similar to control group and was different from the all other vaccines. Nevertheless, I1 and I2 induced antibody titers higher than the control and I1 induced antibody titers similar to IP1, IP2, F1, F2 e F3. Histological scores showed that vaccines I1, I2 and I3 induced similar injury degree, although I2 and I3 were not different from the control, whereas I1 was significantly different. Strong vaccines induced more pronounced lesions than the other tested vaccines. These findings suggest that strong vaccines are able to cause severe bursal injuries. However, bursometry and relative weight of the bursa of Fabricius were considered inadequate to evaluate vaccination programs, but it can be used to choice of vaccines to vaccination programs. Moreover, strong vaccines induced higher antibody titers than the other vaccines, although some intermediate vaccines induced similar titers.

Keywords: Infectious bursal disease, bursa of Fabricius, , lesion, vaccines, immune depression.

1 INTRODUÇÃO

A produção avícola, em poucas décadas, perdeu seu caráter de subsistência para tornar-se um dos setores mais modernos da agropecuária brasileira. O seu crescimento, como resultado dos inúmeros avanços tecnológicos em áreas como genética, nutrição, sanidade e manejo, contribuiu para a formação de uma indústria, extremamente, eficiente e competitiva.

A incorporação da mais avançada tecnologia mundial permitiu, de 1998 a 2002, um aumento de 34,8% na produção de frango de corte no Brasil. Além disso, em 2003, o Brasil atingiu índices recordes com a exportação de carne de frango, obtendo um aumento, em volume, de 20,54%, tendo em vista a exportação de 1,959 milhão de toneladas em comparação com as 1,624 milhão de toneladas de 2002, conforme Associação Brasileira dos Exportadores de Carne de Frango (Abef, 2003). Em 2003, segundo a mesma fonte, o Brasil assumiu a liderança nas receitas com exportações de carne de frango, chegando a US\$ 1,796 bilhão. Os Estados Unidos, que liderava o mercado, fechou o ano com faturamento de US\$ 1,5 bilhão.

De acordo com o demonstrado por Aves e Ovos (1995), em 1930, o ganho médio diário (GMD-g/dia) era de, aproximadamente, 14,29 g/dia, 205% inferior ao índice atual. Há sete décadas, eram necessários 3,5kg de ração para se obter 1kg de frango vivo, sendo que as aves eram abatidas, em média, pesando 1,5kg aos 105 dias de idade. Atualmente, a conversão alimentar média, das principais regiões produtoras do país é de 1,85kg de ração para 1kg de frango vivo, levando em torno de 42 dias para atingir um peso de 2,24kg.

Todos os avanços, já mencionados, associados a um melhor gerenciamento dos custos de produção, possibilitaram um crescente aumento do consumo *per capita*, uma vez que o menor custo da carne de aves favorece o consumidor. Da mesma forma, o preço do ovo é bastante conveniente comparado a outras fontes de proteína animal.

Os ganhos de produtividade decorreram de avanços nas mais diversas áreas envolvidas na produção avícola. Entretanto, a sanidade merece posição de destaque na

manutenção dos atuais índices. A descoberta de novas vacinas, como por exemplo contra a doença de Marek, estudos sobre a doença de Newcastle, e outras viroses, assim como as bacterioses (salmonelose e colibacilose) e o interesse nas micotoxicoses foram responsáveis por possibilitar que a avicultura se tornasse o setor mais competitivo do *agribusiness* mundial.

A utilização de sistemas intensivos de alojamento e manejo na criação de aves, ao mesmo tempo que permite a maximização da produção favorece o aumento da incidência de doenças. Dessa forma, as doenças virais representam a patologia dominante na indústria avícola tornando a vacinação essencial para o seu controle e, provavelmente, fazendo com que as aves, dessa indústria, sejam os animais mais vacinados do mundo (VAN DEN BERG, 2004).

A doença infecciosa bursal (DIB) é uma virose aguda e contagiosa que acomete galinhas. Caracteriza-se por sinais como diarreia, inflamação e atrofia da bolsa de Fabrício (BF) com conseqüente imunodepressão (LUKERT & SAIF, 1997). Dessa forma, representa uma enfermidade, economicamente, importante para a avicultura industrial (VAN DEN BERG, 2000).

Os problemas atuais, relacionados a DIB são crescentes e mais graves tornando essencial a constante realização de eventos científicos específicos com a finalidade de discussão do tema (Di Fabio, 2004).

Tendo em vista essa preocupação, em várias partes do mundo, têm sido desenvolvidas diferentes vacinas assim como programas de vacinação objetivando a prevenção dessa enfermidade.

A maioria dos programas de vacinação, para frangos de corte, contempla o 1º dia de vida esbarrando no paradoxo de hiperimunizar reprodutoras com o objetivo de proteger a progênie e vacinar essa mesma progênie o mais cedo possível.

Além disso, têm sido utilizadas, não somente, vacinas intermediárias “plus” como vacinas contendo vírus muito virulento (vvIBDV), conhecidas como vacinas “quentes” ou do tipo “forte”, que foram reintroduzidas no Brasil entre os anos de 1999 e 2001 depois de terem saído do mercado em 1996 uma vez que não havia, até então,

nenhuma notificação de casos de vírus muito virulento (IKUTA et al.,1999, ITO et al., 2001)

Apesar de alguns autores, que terão seus experimentos mencionados no decorrer dessa dissertação, relatarem as lesões promovidas por essas vacinas concordando com o comprometimento do “status “ imunológico desses animais, a primovacinação continua sendo adotada e muitas vezes com vacinas contendo vírus muito virulento o que não tem impedido a ocorrência de surtos da doença no Brasil.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a patogenicidade de diferentes amostras vacinais contribuindo na escolha das vacinas para programas de vacinação considerando a virulência de cada amostra assim como as necessidades do setor avícola.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A Doença

A doença infecciosa da Bolsa, também conhecida como doença de Gumboro, é uma virose que ataca o sistema imune das aves. É, altamente, infecciosa em aves jovens e caracteriza-se pela destruição dos órgãos linfóides, especialmente, a bolsa de Fabricio, na qual ocorre a formação e a diferenciação dos linfócitos B em aves. (VAN DEN BERG, 2004).

Descrita, primeiramente, por Albert Cosgrove em 1962, é altamente contagiosa, causada por um vírus do gênero *Birnavirus* que afeta a bolsa de Fabrício, assim como outros órgãos linfóides. (ISHIZUKA et. al., 2000).

Os vírus da doença infecciosa da bolsa (VDIB) são classificados em dois sorotipos: sorotipos 1 e 2. O sorotipo 2 foi detectado em frangos e perus e não foi relacionado com quadros patogênicos, já o sorotipo 1 foi encontrado em ambas espécies, porém mostrou-se patogênico somente para frangos (IKUTA et. al., 1999). Os vírus do sorotipo 2 não oferecem proteção às aves desafiadas com o sorotipo 1 (ISMAIL & SAIF, 1990).

O VDIB é constituído de dupla fita de RNA composto por um segmento menor denominado B e outro maior denominado A. As proteínas virais VP2, VP3, VP4 e VP5 estão localizadas no segmento A, enquanto o segmento B contém, apenas, a VP1. Essa última expressa a função de RNA-polimerase do segmento B e pode ter relação com a expressão de virulência. A VP2, localizada no capsídeo externo do vírus, está relacionada com a antigenicidade, ou seja, expressão de epitopos que induzem uma resposta de anticorpos. Por essa razão, essa proteína é conhecida como epitopo de neutralização, ou seja, anticorpos gerados por ela permitem efetuar a diferenciação dos sorotipos e subtipos virais. A VP3 está no capsídeo interno e é a principal responsável pela conformação estrutural do vírus tendo relação com antígenos grupos específicos. Induz resposta de anticorpos, porém são fracamente neutralizantes. A VP4 é uma protease viral que não é incorporada na partícula madura do vírus. A VP5 tem sido

demonstrada na célula infectada, não está presente no vírus maduro e suspeita-se que tenha papel na regulação do ciclo viral ou na liberação do vírus da célula infectada (ITO et. al., 2001)

A porta de entrada, mais comum, do VDIB é a mucosa oral e, excepcionalmente, as vias respiratórias ou ocular. Após quatro a cinco horas de entrada no organismo do animal, o vírus pode ser detectado em macrófagos e células linfóides do ceco, duodeno e jejuno. Ao alcançar a corrente sangüínea, o agente infecta outros tecidos incluindo a bolsa. A viremia prossegue e o vírus infecta outros órgãos como o baço, glândula de Harder e timo. Os linfócitos B e seus precursores parecem ser as principais células-alvo, embora o vírus possa ser encontrado em macrófagos. Antígenos virais podem ser encontrados na bolsa até 9 dias pós infecção (ISHIZUKA et. al., 2000).

Cheville (1967, apud McFerran, 1993) descreveu as alterações observadas com a infecção pelo vírus da DIB. A necropsia de aves mortas na fase aguda, 3 a 4 dias pós inoculação, revelou aumento do tamanho da bolsa até duas vezes o diâmetro normal além de hiperemia e edema. Em casos severos, marcada inflamação da mucosa e a presença de transudato seroso conferindo à superfície da bolsa aparência amarelada. Petéquias hemorrágicas na superfície da mucosa são comuns. Em torno do quinto dia, a bolsa retorna ao tamanho normal e a partir do oitavo dia, aproximadamente, inicia um processo de atrofia podendo chegar à um terço do tamanho normal. Observou, ainda hemorragias musculares e no trato intestinal.

Henri et al. (1980) verificaram alterações histológicas provocadas pelo vírus da DIB. Observaram extensa destruição dos folículos da bolsa, além de infiltração de heterófilos e hiperplasia das células reticuloendoteliais e tecido interfolicular. Em torno de 48 horas pós-inoculação, as microvilosidades são reduzidas em número e tamanho com gradual perda dos folículos. Em 72 horas, havia maior número de folículos em fase de involução e em 96 horas já são evidentes erosões na superfície do epitélio.

Shakya et. al. (1999) desenvolveram cultivos de células da bolsa de Fabrício para estudar a patogenicidade de cepas do vírus da DIB isoladas a partir da bolsa de aves

infectadas naturalmente. Observaram transformação linfoblástica, nos cultivos, desde 24 horas pós inoculação alcançando o pico máximo nas 72 horas seguintes.

2.1.1 A Imunodepressão

O estado imune tem papel crítico na defesa da ave contra patógenos. Como nos mamíferos, o sistema imune das aves é complexo e compreende uma série de células e fatores que devem trabalhar juntos na produção de uma resposta imune protetora.

Sharma (2004) descreve as características gerais do sistema imune. Segundo esse autor, a primeira linha de defesa contra patógenos invasores é feita por mecanismos imunes inatos, como as células fagocitárias, que incluem heterófilos e macrófagos, complemento e células “ natural killer “ (NK). As NK são células linfóides não-T e não-B, que são citotóxicas para células infectadas com vírus e células tumorais. Os patógenos que não têm sua entrada impedida pelas barreiras físicas ou controlados pelos mecanismos inatos de defesa, iniciam uma resposta imune específica (imunidade adaptativa). A imunidade adaptativa é, altamente, específica para o agente que estimula seu desenvolvimento, enquanto a imunidade não-adaptativa ou inata é inespecífica. As células que mediam a imunidade específica retêm uma “memória” de seu encontro com o patógeno mesmo depois desse ter sido eliminado do corpo e que a resposta imune detectável diminuiu. A imunidade adaptativa é mediada por uma série de células, das quais as mais importantes são os linfócitos T, os linfócitos B e os macrófagos. Os linfócitos T, principais células da imunidade mediada por células (CMI), reconhecem os antígenos depois que esses foram processados pelas células apresentadoras de antígeno (APC). Os macrófagos, as células dendríticas e os linfócitos B estão entre as APCs mais importantes. Assim, como nos mamíferos, os linfócitos T aviários têm dois receptores de superfície que ligam os antígenos. As moléculas de superfície CD4 e CD8 diferenciam dois importantes subconjuntos funcionais de linfócitos T. O CD4 é expresso na superfície dos linfócitos T helper (TH), enquanto que CD8 ocorre na superfície dos linfócitos T citotóxicos (CTL).

Segundo Van den berg (2004), o vírus da DIB modula as funções dos linfócitos T. Os linfócitos T ativados produzem ChIFN-g em excesso, que por sua vez, estimula os macrófagos a produzirem pró-mediadores como IL6 e TNFLa. Essa regulação para cima, da ativação dos linfócitos T, é seguida de uma regulação para baixo retroalimentada em galinhas convalescentes, levando à imunodepressão T, cuja duração e importância dependem da cepa e da dose do vírus, assim como da idade e da suscetibilidade da linhagem das aves. No mesmo trabalho, o autor relata que o efeito imunodepressor é menos evidente com a cepa atenuada de VDIB do que com as cepas mais virulentas, com restauração da capacidade de ativação 7 dias após a infecção.

O reconhecimento de um antígeno pelos linfócitos B não depende do mesmo processo de ativação dos linfócitos T . As imunoglobulinas (Ig), ou anticorpos secretados pelos linfócitos B constituem o principal componente da imunidade humoral. As galinhas têm 3 classes principais de Igs: IgM, IgG e IgA. A IgM é encontrada na superfície da maioria dos linfócitos B e é o primeiro anticorpo produzido depois da imunização primária. À medida que a resposta imune progride, as células produtoras de IgM passam a produzir IgG ou IgA. A IgG é o principal anticorpo produzido depois da imunização secundária e é a classe predominante de Ig no sangue da galinha. Como a IgG de aves é maior que seu equivalente mamífero, a IgG da galinha, geralmente, é chamada de IgY. A IgA é a Ig mais importante envolvida na imunidade da mucosa (SHARMA, 2004).

O VDIB replica-se, primeiramente, nos linfócitos B. Aparentemente, esse vírus tem predileção por células em proliferação e isso sugere que as células imaturas ou precursoras de linfócitos B sejam mais afetadas que linfócitos B maduros (SIVANANDAN, 1980).

O VDIB destrói os linfócitos B e ativa as outras células imunes. As galinhas expostas ao VDIB sofrem imunodepressão transitória, mas bastante pronunciada e tanto a resposta imune humoral quanto a celular são comprometidas. A inibição da imunidade humoral é atribuída a destruição das células produtoras de Ig pelo vírus, embora outros mecanismos, como apresentação alterada do antígeno e prejuízo das funções dos

linfócitos T helper, possam estar envolvidos. A infecção pelo VDIB causa uma inibição transitória da resposta proliferativa, *in vitro*, dos linfócitos T a mitógenos. Essa inibição é mediada por macrófagos que são ativados em galinhas expostas ao vírus, ocorrendo a redução da capacidade fagocitária e marcante aumento da expressão de vários genes de citocinas. A infecção também causa ativação dos linfócitos T supressores, podendo contribuir para uma imunodepressão humoral e celular (SHARMA, 2004).

Faragher et. al. (1974) observaram uma marcada imunossupressão para o vírus da doença de Newcastle em aves que foram inoculadas com VDIB em idades jovens.

Giambrone et. al. (1977) demonstraram uma acentuada queda nos títulos de anticorpos contra *Mycoplasma synoviae*, doença de Newcastle e bronquite infecciosa em aves que foram expostas ao vírus da DIB no primeiro dia de vida.

Posteriormente, Pejkovski et.al (1979) concordaram com essa constatação com base no experimento que desenvolveram. Esses autores avaliaram o efeito imunodepressor da doença de Gumboro sobre a vacinação contra a bronquite infecciosa e notaram que as aves inoculadas com o VDIB no 1º e no 5º dia de vida desenvolveram maior imunodepressão do que aquelas inoculadas no 10º, 15º e 20º dia.

Rosenberg & Cloud (1989) concluíram que o agente da anemia das galinhas teve maior patogenicidade quando os pintos foram inoculados com o vírus da DIB no primeiro dia de vida.

Bautista (2004) investigaram o efeito do vírus da doença de Gumboro sobre a infecção por Salmonela Typhimurium . Dividiram as aves em dois grupos de 18 frangos de corte de dois dias de idade e, em um deles, inocularam a variante E do vírus da doença de Gumboro. Ambos os grupos foram inoculados com 10^8 unidades formadoras de colônia de Salmonela Typhimurium. Observaram que a quantidade de Salmonela no ambiente foi maior para o grupo inoculado com o vírus de Gumboro. O grupo inoculado com o vírus apresentou lesões bursais, enquanto no outro as lesões estiveram ausentes. Além disso, as proporções entre peso bursal e corporal foram menores nas aves inoculadas com ambos agentes nas duas e quatro semanas pós inoculação.

2.1.2 A lesão da bolsa de Fabricio

A imunodepressão está, diretamente, relacionada ao grau de integridade histológica da bolsa de Fabricio (IVÁN et. al., 2001). Pois, a bolsa de Fabricio é um órgão linfóide que exerce a função de proliferação e maturação dos linfócitos B, os quais através de estímulos específicos se diferenciarão em plasmócitos e produzirão anticorpos. Além disso a BF contém mais de 90% dos linfócitos B de um indivíduo na idade jovem (OLAH et. al., 2001)

Ismail et. al. (1987) examinaram o efeito do número de células da bolsa sobre a doença de Gumboro em animais bursectomizados, ao nascimento, inoculando diferentes quantidades de células bursais para posterior desafio com uma cepa virulenta do vírus de Gumboro. Perceberam que os pintos inoculados com a maior quantidade de células da bolsa foram tão suscetíveis às manifestações clínicas da doença quanto os pintos normais, enquanto aqueles inoculados com uma quantidade menor de células não manifestaram sinais clínicos da enfermidade quando comparados ao grupo que recebeu maior quantidade de células e o grupo controle. Sugeriram, então, que a disponibilidade de maior quantidade de células da bolsa é um fator essencial para o desenvolvimento da doença infecciosa da bolsa.

A destruição da bolsa cria uma imunodepressão que será tanto mais séria quanto mais jovem for a ave infectada. Além do seu impacto zootécnico e de seu papel no desenvolvimento de infecções secundárias, pode afetar a resposta imune da galinha a vacinações subsequentes, essenciais em todos os tipos de produção intensiva (VAN DEN BERG, 2004)

2.2 Breve histórico das vacinas

Durante os anos 60 e início da década de 70, a DIB foi diagnosticada em várias regiões dos EUA. A primeira suspeita de ocorrência no Brasil foi reportada por Nakano

e confirmada por Saukas (1978). Já no início da década de 70 foi reconhecido que o vírus, além de causar doença em aves com 3 semanas de idade ou mais velhas, causava também severa imunodepressão sem doença clínica. Os pintainhos estariam protegidos pelos anticorpos maternos a partir do momento que todas as reprodutoras se tornassem, sorologicamente, positivas.

A primeira vacina, desenvolvida pelo Dr. Edgar, foi produzida com vírus vivos derivados de bolsa ou de sua propagação em embriões. Consistia num homogenato de bolsas preparado a partir de aves infectadas por isolados de campo. Porém essas vacinas não eram atenuadas e podiam causar de 20 a 30% de mortalidade em galinhas susceptíveis de seis semanas de idade (LUKERT, 1993).

No início da década de 70, o grupo do Dr. Phil Lukert, da Universidade da Geórgia, adaptou a cepa de Edgar em vários sistemas de cultivo. A cepa Edgar adaptada passou a ser conhecida como Lukert ou suave (IKUTA et. al., 1999).

O próximo estágio, do controle da DIB, começou no início de 1980 e era baseado no conceito do uso de vacinas inativadas oleosas para estimular níveis elevados e uniformes de anticorpos nos lotes de reprodutores. Logo, foi observado que as cepas atenuadas (Lukert ou suave) do vírus da DIB não estavam ultrapassando os elevados níveis de anticorpos maternos (LUKERT, 1993). As vacinas suaves administradas tanto de forma oral, como nasal ou ocular, foram efetivas somente na imunização de aves que tinham títulos de anticorpos, adquiridos passivamente, abaixo de 100. Aves com esse nível de anticorpos, desafiadas com vírus patogênico de campo poderiam ser, totalmente, suscetíveis à infecção (LUKERT & SAIF, 1997).

As cepas intermediárias, que venciam a barreira de anticorpos maternos, foram desenvolvidas e, extensivamente, utilizadas no controle da doença (LUKERT, 1993).

De acordo com Lasher & Shane (1994) a ocorrência de cepas muito virulentas, capazes de induzir 100% de mortalidade, em galinhas, sem anticorpos específicos, foi notificada na Europa em 1989.

Os primeiros casos de alta mortalidade da DIB no Brasil, foram observados por volta de 1997 (DI FABIO et. al.,1999). A doença foi causada pelo vírus muito

virulento, classificado pelos autores no grupo molecular 11 (G11), e era similar à amostra, muito virulenta, encontrada na Europa.(IKUTA et. al., 2001).

Segundo MacFerran (1993), galinhas com altos níveis de anticorpos circulantes deveriam ser vacinadas com vacinas menos atenuadas ou vacinas mais virulentas.

Novas estratégias no controle da DIB foram propostas quando vírus atípicos ou variantes foram descritos nos EUA em 1985, como Delaware A, D, E e G (LASHER & SHANE, 1994) e cepas de vírus muito virulento foram descritas entre 1986 e 1987 na Europa (VAN DEN BERG, 2000).

Na Europa, foi proposto que vacinas “fortes” deveriam ser usadas para prevenção da DIB com alta mortalidade. Van den berg e Meulemans (1991) discutiram a hipótese de que vacinas intermediárias não seriam protetoras diante do desafio com vírus muito virulentos.

No Brasil, a vacina denominada intermediária plus (Bursine plus Fort Dodge e Nobilis 228-E[®] Intervet) foi liberada, em 1999, para o controle da DIB causada pela amostra muito virulenta do vírus (G11). Vacinas “fortes”, ou “quentes”, voltaram a ser avaliadas em 2000: amostra Moulthrop G603 (Avimune – F[®]-Coopers) amostra V877 (Poulvac[®]-F- Fort Dodge) e amostra Winterfield 2512 (Cevac[®] IBD L Ceva).

2.3 Vacinas: proteção x desafio

Jackwood & Sommer (2002) tentaram diferenciar cepas vacinais de cepas de campo responsáveis pela doença de Gumboro baseando-se na presença do marcador molecular NgoM IV encontrado em 10 cepas de campo do VDIB, porém não encontrado em 16 cepas vacinais utilizadas na confecção de vacinas intermediárias. Entretanto, ao avaliarem vacinas comercializadas como intermediária “plus” e “forte” detectaram a presença desse marcador. Logo concluíram que a ausência da seqüência de restrição da enzima NgoM IV é compatível com certo nível de atenuação, assim como sua presença é consistente em cepas virulentas do vírus de Gumboro.

Segundo Bernardino (2000), as vacinas “fortes” conseguem vencer a barreira dos anticorpos maternos mais facilmente que as intermediárias ou intermediárias plus. Por esse mesmo motivo, Ikuta et. al. (1999) concluíram que cepas “quentes” deveriam ser administradas mais, precocemente, do que cepas mais suaves.

Ishyzuka (1999) cita que, do ponto de vista prático, a vacinação no primeiro dia de idade é uma alternativa viável, pois essa visa a ocupação do tecido linfóide antes que o vírus de campo o faça. Porém, se as aves são vacinadas cedo o vírus vacinal é inativado pelos anticorpos maternos (Goddard, 1994).

Tessari et al. (2000) avaliaram o declínio dos títulos de anticorpos para o VDIB em 20 lotes de pintos, 10 lotes vacinados e 10 lotes não vacinados, provenientes de matrizes vacinadas. Observaram, aos dez dias de idade, que não havia diferença significativa entre os títulos dos dois grupos, vacinados e não vacinados. Concluíram então que os altos títulos de imunidade passiva tornam desnecessária a vacinação contra a DIB em pintos no 1º dia de vida.

Moraes (2004) desafiou , com a amostra muito virulenta do vírus da DIB (GAR-1), pintos provenientes de matrizes vacinadas contra a DIB, de duas empresas (A e B), no 1º, 4º, 7º, 10º, 13º, 16º, 19º e 22º dias de idade após terem sido vacinados com uma amostra intermediária no primeiro dia de vida. Observou, então, que os anticorpos maternos diminuem, progressivamente, tanto nas aves vacinadas como nas não vacinadas até os 22 dias de idade e que não é necessária a vacinação no primeiro dia de vida, pois os títulos de anticorpos demonstraram proteção dos animais no decorrer da primeira semana de vida na empresa A e até 12 dias na empresa B. Além disso, essa diferença no período de proteção, encontrada entre as duas empresas, demonstra que a utilização de um programa universal de vacinação é uma medida arriscada, evidenciando a importância, não apenas do conhecimento dos títulos de anticorpos de cada lote, assim como da interpretação dos resultados encontrados.

Programas de monitorização sorológica são recomendados e usados nas empresas para avaliar a resposta imune e a qualidade do processo de vacinação. No entanto, é necessário uma correta interpretação dos resultados das monitorizações para que dados importantes não sejam perdidos (RODRIGUES & PEREIRA, 2002).

Salle et al.,(1999), apresentam, em seu trabalho, metodologias que possibilitam que as respostas imunológicas sejam transformadas em equações matemáticas. Essas equações, quando, corretamente, interpretadas, possibilitam a compreensão da resposta imunológica e, desse modo, fornecem critérios objetivos para a formulação de um diagnóstico clínico correto e a interpretação dos resultados de monitorização sorológica que pretendem avaliar a eficácia dos programas de vacinação em reprodutoras.

Di Fabio (2002) cita, em seu trabalho, que as vacinas mais virulentas mostraram-se mais eficientes, contra vírus muito virulentos, no sentido de proteger contra a mortalidade, porém ainda não é sabido se o grau de agressão bursal dessas vacinas poderia, de algum modo, comprometer o desenvolvimento de uma imunidade plena e aumentar a suscetibilidade das aves a outros patógenos.

Na França, as cepas “quentes” só podem ser utilizadas em condições restritas, nas quais o vírus está relacionado à doença clínica em galpões vacinados, ou em condições epidemiológicas em que a infecção é inevitável (IKUTA et. al., 1999).

As vacinas, de um modo geral, devem conferir proteção sem causarem danos a saúde dos animais, evitando que as aves adoçam e morram, reduzindo, dessa forma, as perdas econômicas nos plantéis (SALLE & SILVA, 2000).

Entretanto, inúmeros trabalhos desenvolvidos até o momento, com o objetivo de avaliar a eficácia de vacinas contra a doença de Gumboro demonstram que, muitas delas, promovem considerável grau de agressão à bolsa de Fabricio.

Sharma et. al. (1989) comparam a patogenia de duas cepas da doença de Gumboro pertencentes ao sorotipo 1 e variante do mesmo sorotipo. Inocularam pintos com a cepa VA (variante A) ou cepa IM (cepa virulenta do vírus da DIB). Ambas as cepas induziram uma similar depressão da resposta mitogênica, assim como sérias lesões macro e microscópicas na bolsa de Fabricio. Porém, a necrose da bolsa induzida pela cepa IM esteve acompanhada de uma resposta inflamatória, enquanto que esse componente inflamatório esteve ausente na lesão induzida pela cepa VA. Além disso, a cepa IM provocou extensas lesões no timo enquanto que a cepa VA não produziu tais lesões.

Tsukamoto (1995) vacinaram aves livres de patógenos específicos (LPE) e aves comerciais, aos 20 dias de idade, com vacinas contendo vírus vivo, duas suaves e uma intermediária, disponíveis no Japão. Dez dias após a vacinação, as aves foram desafiadas com um vírus de Gumboro, altamente, virulento. Nas aves que possuíam anticorpos maternos, não foram observadas diferenças, entre o grupo vacinado com a vacina intermediária e o grupo controle não desafiado, na redução do peso da bolsa assim como nos escores de lesão bursal. Além disso, todas as aves vacinadas e não desafiadas apresentaram lesões bursais.

Luengo et. al. (2001), avaliaram a severidade de lesões, macroscópicas e microscópicas, provocadas pelo vírus da DIB em grupos de animais vacinados, às quatro semanas de idade, com um vacina intermediária contendo vírus vivo. Observaram atrofia e redução da relação peso da bolsa/peso corporal. Em um segundo experimento, as aves foram vacinadas com uma amostra clássica do vírus da DIB e as lesões se constituíram em necrose folicular, depleção linfocitária, além de inflamação aguda, edema, hemorragia e infiltração de heterófilos.

Kim *et al.* (1999) estudaram o efeito a longo prazo, da infecção pelo vírus da DIB avaliando a restauração das lesões da bolsa de Fabrício após a inoculação de pintos, no primeiro dia de vida, com uma vacina que continha uma cepa intermediária e outra com uma cepa virulenta. Ao início da infecção observaram extensa necrose dos linfócitos B da bolsa, acompanhada por uma infiltração de linfócitos T. Com o passar do tempo, a necrose da bolsa não foi observada e a população de linfócitos B nos folículos, foi restabelecida parcialmente. A repopulação linfóide ocorreu mais rapidamente nos pintos expostos à vacina intermediária, e foi de 80% às sete semanas e de 40% naqueles que receberam vírus virulento.

Rautenschlein et. al. (2003) compararam a imunopatogenia promovida por cepas suaves, intermediárias e virulentas do vírus clássico da DIB em aves livres de patógenos específicos às 3 semanas de idade. Observaram que a cepa mais virulenta produziu níveis de anticorpos mais altos detectados entre 8 e 29 dias pós inoculação (PI) e maior proteção contra multiplicação do vírus de desafio. Por outro lado, essa mesma cepa

induziu 25% de mortalidade nos animais inoculados, enquanto não houve mortalidade nos grupos expostos a cepa suave e intermediária. A cepa forte induziu massiva infiltração de heterófilos, em todas as aves inoculadas, nos 3 dias PI e a cepa intermediária promoveu 100% de destruição dos folículos da bolsa em todas as aves 3 dias PI. Comentam, ainda, o início de uma repopulação folicular de $10 \pm 12.8\%$ 5 dias PI, porém somente com a cepa intermediária.

Salle (1989), trabalhando com pintos de 1 dia de idade, provenientes de quatro integrações avícolas, com títulos de anticorpos maternos variáveis, observou que após a agressão com uma amostra clássica do sorotipo 1 do vírus da DIB (52/70), aos 14 e 21 dias, a proteção por anticorpos maternos, induzidos por vacinas produzidas com amostras virais também do sorotipo 1, variou entre 7 e 100%. O autor chegou à conclusão de que investigar os programas de vacinação, os métodos de aplicação das vacinas, a cepa vacinal (suave, intermediária ou forte) assim como as doenças intercorrentes, eram, naquele momento, mais importantes do que a procura de cepas variantes do vírus da DIB.

O conhecimento da patogenicidade das diferentes vacinas comerciais utilizadas no Brasil é um dos fatores essenciais para o sucesso dos programas de vacinação.

Dessa forma, decidimos delinear um experimento que tivesse como principal objetivo a caracterização e a comparação das lesões promovidas por 8 vacinas comerciais, contra a DIB, na tentativa de contribuir na escolha das mesmas para os diferentes programas de vacinação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Vacinas

Foram utilizadas três amostras de vacinas preparadas com vírus de patogenicidade intermediária (I1, I2, I3), duas vacinas preparadas com vírus intermediário mais patogênico (IP1, IP2) e três vacinas com vírus “forte” (F1, F2, F3), conforme especificação dos fabricantes.

Aves

Foram utilizadas 90 aves livres de patógenos específicos (LPE), distribuídas em 9 grupos, sendo 8 para as diferentes vacinas e 1 grupo controle, criadas em baterias mantidas em unidades de isolamento e alimentadas *ad libitum*.

Vacinação

Os 8 grupos de aves foram vacinados, com uma dose, através da via ocular, com oito diferentes amostras de vacinas aos 21 dias de idade e sacrificadas aos 28 dias. As vacinas foram tituladas em ovos LPE (Sadia SA , Uberlândia-MG) e padronizadas para vacinação a um título de $10^{3,0}$ DIE/50. O grupo controle não foi vacinado.

Bursometria

Aos 28 dias as aves foram pesadas e o diâmetro das bolsas de Fabrício (BF) foi medido através de uma régua, Bursômetro[®] (Fort Dodge[®] Saúde Animal), na qual os orifícios apresentam uma variação em escores de 1 a 8, que representam: 1=3,17mm, 2=6,35mm, 3=9,52mm, 4=12,70mm, 5=15,87mm, 6=19,05mm, 7=22,22mm e 8=25,40mm.

Peso relativo da bolsa de Fabrício

As aves foram pesadas e logo após a retirada da BF, a mesma foi, também, pesada para a obtenção do peso relativo (PR) através da razão entre peso bursal (PB) e o peso corporal (PC) multiplicado por 1000.

Histopatologia

As bolsas de Fabrício, colhidas, foram fixadas em formol a 10% tamponado e seccionadas, transversalmente, na região mediana. Após o corte, as porções obtidas foram desidratadas, clarificadas e incluídas em parafina, seccionadas, coradas com hematoxilina e eosina e classificadas pelo nível de lesões encontradas conforme Muskett *et al.* (1979), sendo que cada escore, numerados de 0 a 5, representa o grau de

depleção linfocitária correspondente a normal, < de 24%, 25 – 49%, 50-69%, 70-89% e >de 90% respectivamente.

ELISA

As aves foram sacrificadas aos 28 dias e os 90 soros foram colhidos para a realização da medida de anticorpos para VDIB, através da técnica ELISA com o “kit” comercial CivitesTM AVI IBD[®], Laboratórios Hipra S.A.

Análise Estatística

Os dados foram analisados através da utilização do programa de computador Sigmastat StatisticalTM, Software Version 2.0 SPSS Inc. e MinitabTM Statistical Version 13.2, Minitab Inc.

4 RESULTADOS

Diâmetro da bolsa de Fabricio

Foi realizada a comparação entre os diâmetros das bolsas de Fabrício para cada uma das vacinas utilizadas. Observou-se que as vacinas I1, I2, I3 não induziram diferenças ($p>0,05$), quanto ao tamanho da bolsa, nos animais vacinados em relação ao grupo controle. Já os animais que receberam as vacinas IP1, IP2, F1, F2 e F3 apresentaram tamanho de bolsa, significativamente menor ($p<0,05$) quando comparadas com o grupo controle. Os tamanhos de bolsa foram maiores ($p<0,05$) para os animais que receberam a vacina I1, I2, I3 quando comparados aos que receberam as vacinas IP1, IP2, F1, F2 e F3. A Tabela 1 mostra as médias e desvios padrões obtidos a partir dos diâmetros das bolsas de acordo com as diferentes vacinas.

Tabela 1 - Médias e desvios padrões dos diâmetros de bolsas de Fabrício de acordo com as distintas vacinas

Vacinas	n	Média	SD
Controle	10	4.8 ^a	0.63
I1	10	4.4 ^a	0.51
I2	10	4.3 ^a	0.48
I3	10	4.8 ^a	0.63
IP1	10	3.5 ^b	0.52
IP2	10	3.2 ^b	0.42
F1	10	2.9 ^b	0.31
F2	10	3.0 ^b	0.00
F3	10	2.9 ^b	0.31

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$)

SD - desvios padrões; p – valor de probabilidade do teste de análise de variância

Peso relativo da bolsa de Fabricio

Através da obtenção do peso relativo das bolsas de Fabricio observou-se que as vacinas intermediárias (I1, I2 e I3) não foram capazes de induzir redução ($p > 0,05$) do tamanho da bolsa a ponto de diferenciá-las do grupo controle. Já as vacinas intermediárias mais patogênicas (IP1 e IP2) e fortes (F1, F2 e F3) revelaram a capacidade de causar redução suficiente ($p < 0,05$) do tamanho da bolsa, que as diferenciou tanto do grupo controle, quanto do grupo de aves que recebeu as vacinas intermediárias (I1, I2 e I3). A Tabela 2 apresenta as médias e desvios padrões obtidos a partir dos pesos relativos das bolsas de Fabricio de acordo com as diferentes vacinas empregadas.

Tabela 2 - Médias e desvios padrões dos pesos relativos das bolsas de Fabricio correspondentes às diferentes vacinas

Vacina	n	Média	SD
Controle	10	5.88 ^a	0.90
I1	10	5.88 ^a	1.38
I2	10	6.06 ^a	1.64
I3	10	7.22 ^a	1.20
IP1	10	3.05 ^b	1.15
IP2	10	2.62 ^b	0.81
F1	10	1.74 ^b	0.41
F2	10	2.00 ^b	0.40
F3	10	1.75 ^b	0.46

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$)

SD– desvios padrões; p – valor de probabilidade do teste de análise de variância

Títulos de anticorpos

Os títulos de anticorpos contra IBDV foram mensurados, através da técnica ELISA, para as distintas vacinas. Foi possível observar que I3 não mostrou diferença ($p > 0,05$) do grupo controle diferindo ($p < 0,05$) de todas as demais vacinas. I1 e IP1

desenvolveram comportamento semelhante em relação ao título de anticorpos produzido, demonstrando diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle e semelhança ($p > 0,05$) com IP2 e as vacinas fortes. Não obstante, I2 promoveu a formação de títulos de anticorpos semelhante ($p > 0,05$) às vacinas I1 e IP1, porém, diferiu ($p < 0,05$) de I3, IP2 e das vacinas fortes. A vacina intermediária mais patogênica (IP2) e as vacinas fortes (F1, F2 e F3) não diferiram entre si ($p > 0,05$).

A Tabela 3 apresenta as medianas obtidas a partir dos títulos de anticorpos promovidos pelas diferentes vacinas.

Tabela 3 – Medianas dos títulos de anticorpos produzidos pelas diferentes vacinas

Vacinas	N	Medianas (log₁₀)
Controle	9	2.10 ^a
I1	10	3.28 ^{bc}
I2	9	3.00 ^b
I3	10	2.23 ^a
IP1	10	3.36 ^{bc}
IP2	10	3.69 ^c
F1	10	3.77 ^c
F2	10	3.67 ^c
F3	10	3.77 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$)
 Teste Kruskal-Wallis

Lesões histológicas da bolsa de Fabricio

As lesões histológicas, provocadas por cada uma das vacinas, nas bolsas de Fabrício foram avaliadas. Foi possível observar que as vacinas intermediárias I1, I2 e I3 não demonstraram diferenças ($p > 0,05$) entre si. Entretanto, enquanto I2 e I3 mostraram semelhança ($p > 0,05$) com o grupo controle, I1 mostrou-se diferente do mesmo ($p < 0,05$).

As vacinas intermediárias mais patogênicas (IP1 e IP2) e as vacinas fortes (F1, F2 e F3) foram semelhantes ($p>0,05$) entre si, diferindo ($p<0,05$) tanto do grupo controle quanto das intermediárias I1, I2 e I3 na capacidade de promover lesões histológicas na bolsa de Fabricio. A Tabela 4 apresenta as medianas obtidas a partir dos escores de lesões histológicas das diferentes vacinas.

Tabela 4 – Medianas dos escores de lesões histológicas das diferentes vacinas

Vacinas	N	Medianas
Controle	10	1.00 ^a
I1	10	2.00 ^b
I2	10	1.50 ^{ab}
I3	10	1.00 ^{ab}
IP1	10	4.00 ^c
IP2	10	4.00 ^c
F1	10	4.00 ^c
F2	10	3.00 ^c
F3	10	4.00 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$)
Teste Kruskal-Wallis

5 DISCUSSÃO

A partir da análise dos escores histopatológicos de lesão bursal e de diâmetro de bolsa, observou-se que não existe nenhuma correlação entre os dois parâmetros quando as vacinas foram analisadas separadamente. Esse fato reforça a hipótese de que a bursometria é um exame menos sensível para a avaliação vacinal do que o exame histopatológico. Moraes (2004) trabalhando com aves vacinadas ao 1º dia de vida e desafiadas com amostras muito virulentas do vírus da DIB, não encontrou correlação entre diâmetro da BF e doença ou vacinação. Em outro trabalho realizado nesta instituição, no qual foi realizada uma monitoria da doença de Gumboro, comparando-se o exame histopatológico aos resultados obtidos na bursometria, observou-se que de 155 animais que apresentaram escore histopatológico compatível com doença, 137 foram considerados bem imunizados através da bursometria. Esse fato pode ocorrer em função da bursometria não levar em consideração o peso das aves, pois aves doentes com peso corporal maior do que aves leves vacinadas podem apresentar bolsas de um mesmo diâmetro, embora as primeiras estejam atrofiadas (Pereira, 2002). Por outro lado, quando as vacinas foram analisadas em conjunto observou-se correlação entre os escores de lesão histológica e de diâmetro de bolsa. Pois, ao analisarmos o conjunto de vacinas passamos, necessariamente, a considerar a variável patogenicidade. Dispondo de diferentes vacinas dispomos também de diferentes graus de patogenicidade, sendo assim a correlação entre os diferentes parâmetros passa a existir. Esse achado, revela que a utilização da bursometria é, perfeitamente, viável quando o objetivo é a escolha da

vacina a ser utilizada em um programa de vacinação. Porém, cabe salientar que quando o objetivo é a avaliação vacinal, ou seja, quando dispomos de apenas uma vacina ou grau de patogenicidade, a utilização exclusiva do diâmetro da bolsa pode fornecer resultados pouco confiáveis.

Através da avaliação sorológica, foi possível observar que algumas vacinas intermediárias possuem a capacidade de promover a formação de títulos de anticorpos semelhantes aos das vacinas fortes. Rautenschlein *et al.*, (2002) detectaram, em seu experimento, que a cepa intermediária estudada, induziu a formação de títulos de anticorpos semelhantes ao da cepa muito virulenta no decorrer de 29 dias de observação. Não obstante, no presente trabalho, as cepas intermediárias (IP1 e IP2) estimularam o desenvolvimento de títulos de anticorpos contra VDIB semelhante ao das vacinas fortes. Porém, cabe salientar que não é sabido se as vacinas utilizadas nos dois experimentos comparados possuem a mesma amostra do vírus da DIB.

Observou-se que a amostra I1 promoveu o desenvolvimento de títulos de anticorpos semelhantes ao das vacinas fortes, sendo que a lesão histológica correspondente, foi significativamente menor ($p < 0,05$) do que àquela provocada por F1, F2 e F3. Esse achado demonstra que algumas vacinas intermediárias podem conferir a mesma proteção que algumas vacinas “fortes”, sem, no entanto, comprometer a integridade da bolsa de Fabricio. Entretanto, deve-se considerar a relação antigênica entre os vírus vacinais empregados e o vírus utilizado na sensibilização da placa do “kit” de ELISA.

Ezeokoli *et al.*, (1990) avaliaram alterações histológicas das bolsas de Fabrício associadas com a vacinação contra a DIB em galinhas. Os autores relataram severas lesões bursais entre 3 e 7 dias pós- vacinação, sugerindo um programa de vacinação que

contemple os primeiros dias de vida baseando-se na observação que até os 15 dias pós-vacinação as aves alcançaram uma recuperação total do tecido bursal não havendo diferença distinguível entre as mesmas e o grupo controle. Entretanto, os autores não informaram quais as amostras vacinais utilizadas. Por outro lado, esse achado discorda da observação feita por Kim *et al.*, (1999), os quais, observando o efeito, a longo prazo, da infecção pelo vírus da DIB com vacinas contendo cepas intermediárias e virulentas, concluíram que o desaparecimento da necrose da bolsa e o restabelecimento da população de linfócitos B, nos folículos, foi parcial. Observaram ainda que, às sete semanas após a inoculação, essa repopulação foi de 80% nos folículos da bolsa dos animais expostos à vacina preparada com cepa intermediária e 40% naqueles que receberam vacina preparada com cepa virulenta. Dessa forma, a utilização de vacinas que são, comprovadamente, capazes de promover acentuado grau de lesão no sistema linfóide merece especial atenção, uma vez que o grau de recuperação dos folículos da bolsa pode não ser total. Além disso, o tempo necessário para a repopulação folicular pode ser suficiente para tornar o animal suscetível a diversas patologias.

O presente trabalho revela que as vacinas intermediárias mais patogênicas e as vacinas fortes são capazes de promover severos danos na bolsa de Fabrício dos animais vacinados, promovendo depleção linfocitária correspondente a, aproximadamente, 90%. Ressalte-se que lesões histológicas similares a estas são consideradas como produzidas pelos vírus patogênicos de campo sendo, portanto, compatíveis com doença.

Quando Dr. Edgar desenvolveu a utilização dos homogenatos de bolsas de animais infectados, que eram inoculados, diretamente, nas aves, provavelmente, não esperava a indução de graves lesões nos animais a ponto de apresentarem sinais clínicos da doença

e até 30% de mortalidade. Já o grupo do Dr. Lukert, tendo conhecimento dos danos produzidos através dessa técnica, atenuou a cepa isolada por Edgar, na tentativa de produzir uma vacina menos agressiva aos animais, que fornecesse ao sistema imune a capacidade de desenvolver anticorpos contra o vírus, sem, no entanto, provocar danos, ao organismo, o que acaba comprometendo suas funções.

Há, aproximadamente, 30 anos atrás, esses pesquisadores buscavam a proteção imune contra a DIB trabalhando com as informações que possuíam na época.

Desde então, diversas foram as cepas do VDIB caracterizadas. Atualmente, através da biologia molecular, já é possível determinar a virulência das cepas e, dessa forma, categorizá-las conforme o grau de patogenicidade.

Todos esses avanços resultaram num grande número de vacinas produzidas comercialmente, cuja apresentação varia conforme a amostra viral conhecida.

Dessa forma, é pouco compreensível, nos dias de hoje, com todas as informações que adquirimos no decorrer dos últimos 30 anos, o uso de vacinas causadoras de lesões, ao sistema imune das aves, que podem ser comparadas àquelas provocadas pelos vírus patogênicos de campo.

Sendo assim, antes de determinar-se quais amostras vacinais devem ser utilizadas em um programa de vacinação, o grau de patogenicidade das mesmas deveria ser levado em consideração.

6 CONCLUSÕES

1. Não se observou correlação entre os escores de lesão histológica e de diâmetro de bolsa quando as vacinas foram analisadas separadamente.
2. Observou-se correlação entre os escores de lesão histológica e de diâmetro de bolsa quando as vacinas foram analisadas em conjunto.
3. As vacinas intermediárias mais patogênicas IP1 e IP2 foram capazes de promover a formação de títulos de anticorpos semelhantes ao das vacinas fortes.
4. A vacina de patogenicidade intermediária I1 promoveu o desenvolvimento de títulos de anticorpos semelhantes aos das vacinas fortes, porém com lesão histológica correspondente, significativamente, menor.
5. As vacinas intermediárias mais patogênicas, assim como as fortes são capazes de causar severos nas bolsas de Fabricio dos animais vacinados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Associação Brasileira dos Exportadores de Frangos. Brasil é o maior exportador de frango do mundo superando os Estados Unidos. Disponível em <http://www.abef.com.br>. Acesso em 12 dez. 2003.

Aves e Ovos. Do terreiro ao laboratório: Os progressos da nutrição de aves, 1995. São Paulo, v.11, n. 5, p. 20-30.

BAUTISTA, D.A. ELANKUMARAN, S. HECKERT, R.A. Effect of a variant infectious bursal disease virus (E/DEL) on Salmonella typhimurium infection in commercial broiler chickens. **Avian Diseases**, 2004, 48, p. 361-369.

BERNARDINO, A. Gumboro: Experiência brasileira. In: CONFERÊNCIA APINCO, 2000, Campinas, SP, **Anais**.

COSGROVE, A.S. Na apparently new disease of chickens – Avian nephrosis. **Avian Diseases**, 1962, v.12, n.6, p.385-389.

DI FABIO, J.; ROSSINI, L.I.; ENTERRADOSSI, N.; TOQUIN, D.; GARDIN, Y. European-like bursal disease viruses in Brazil. **Veterinary Record**, 1999, 145, p. 203-204.

DI FABIO, J. A doença de Gumboro, formas de controle e como avaliar a proteção. III Simpósio de sanidade avícola de Santa Maria, 2002, **Anais**, p. 16-19.

DIFABIO, J. Gumboro preocupa avicultura. Disponível em <http://www.aviste.com.br/reportagem/gumboro/default.asp>. Acesso em 25 nov. 2004.

EZEOKOLI, C.D.; JTYONDO, E.A.; NWANNENNA, A.I.; UMOH, J.U. Immunossuppression and histopathological changes in the bursa of Fabricius associate with infectious bursal disease vaccination in chicken. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**, 1990, 13 (4), p. 181-188.

FARAGHER, J.T. ALLEN, W.H. WYETH, P.H. Immunosuppressive effect of infectious bursal agent on vaccination against Newcastle disease, 1974, **Veterinary Record**, 95, p.385-388.

GIAMBRONE, J.J.; EIDSON, C.S.; LEVEN, S.H. Effect of infectious bursal disease on the response of chicken to Mycoplasma synoviae, Newcastle virus and Infectious bronchitis virus. **American Journal Veterinary Research**, 1977, v.38, n.2.

GODDARD, R.D.; WYETH, P.J.; VARNEY, W.C. Vaccination of commercial layer chicks against infectious bursal disease with maternally derived antibodies. **The Veterinary Record**, 1994, september, p. 273-274.

HENRY, C.W.; BREWER, R. N.; EDGAR, S.A. Studies on infectious bursal disease in chickens. **Poultry Science**, 1980, 59, p.1006 –1017.

IKUTA, N.; FONSECA, A.; LUNGE, V. Doença de Gumboro. **Boletim Técnico Simbios Biotecnologia**, Canoas, 1999.

IKUTA, N.; EL-ATRACHE, J.; VILLEGAS, P.; GARCIA, M.; LUNGE, V.R.; FONSECA, A.S.K.; OLIVEIRA, C.; MARQUES, E.K. Molecular characterization of brazilian infectious bursal disease viruses. **Avian Diseases**, 2001, 45 (2), p. 297-306.

ISHIZUKA, M. M., Epidemiologia e Profilaxia da Infecção pelo Vírus da Doença da Bursa / Doença de Gumboro em Frangos de Corte e Poedeiras Comerciais. **Manual Técnico**, São Paulo1999. p. 2-31.

ISHIZUKA, M.M.; SIMON A.V. Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício – DIB. In: JÚNIOR B.A.; MACARI, M. **Doença das Aves**. Campinas, SP. FACTA, 2000, cap. 5, p. 301-314.

ISMAIL, N.M.; FADLY, A.M.; CHANG, T.S. Effect of bursal cell number on the pathogenesis of infectious bursal disease in chickens. **Avian Diseases**, 1987, 31, p.546-555.

ISMAIL, N.M.; SAIF, M. **Food Animal Health Reserch Program**, Ohio, 1990, p. 460-469.

ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; LIMA, E.A.; OKABAYASHI, S. Doença de Gumboro: Revisão de Literatura, Avanços Tecnológicos e Novos Conhecimentos. **Boletim Técnico ELANCO Saúde Animal**, São Paulo, 2001.

IVÁN, J., NAGY, N., MAGYAR, A., KACSKOVICS, I., MÉSZÁROS. Functional restoration of the bursa of Fabricius following in ovo infectious bursal disease vaccination. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 2001; 79, 235-248.

JACKWOOD, J. & SOMMER, S.E. Virulent vaccine strains of infectious bursal disease virus not distinguishable from wild-type viruses with the use of a molecular marker. **Avian Diseases**, 2002, 46, p. 1030-1032.

KIM, J.; GAGIC, M.; SHARMA, J.M. Recovery of antibody-producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. **Avian Diseases** 1999; 43:401-413.

LASHER, H.N., SHANE, S.M. Infectious bursal disease. **Worlds Poultry Science Journal** 1994; 50, p.133-166.

LUENGO, A.; BUTCHNER, G.; KOZUKA, Y.; MILES, R. Histopathology and transmission electron microscopy of the bursa of Fabricius following IBD vaccination and IBD virus challenge in chickens. **Revista Científica FCV-LUZ**, 2001. V.XI, n.6. p. 533-544.

LUKERT, P. D. A situação da doença de Gumboro nos Estados Unidos. Simpósio Doença de Gumboro. Santos, SP, 1993. **Anais**, p.36-39.

LUKERT, P.D. & SAIF, Y.M. Infectious Bursal Disease. In: Calnek, B. W.; John Bames, H.; Beard, C. W.; McDougald, L.R.; Saif, Y.M. (Eds.) **Diseases of Poultry**, Iowa State University Press, Ames, Iowa, p.721-739, 1997.

MCFERRAN, J.B.; MCNULTY, M.S. Virus infectious of birds. In: **Infectious bursal disease**. Elsevier Science Publisher. Amsterdam, Netherlands, 1993, p. 213-228.

MORAES, H.L.S. Doença infecciosa bursal: estudo sobre amostras vacinais, imunidade materna e desafio com amostra muito virulenta do vírus. [**Tese de Doutorado**]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004, Porto Alegre, 96p.

MUSKETT, J.C.; HOPKINS, I.G.; EDWARDS, K.R.; THORNTON, D.H. Comparison of two infectious bursal disease vaccine strains: Efficacy and potential Hazrds in susceptible and maternally immune birds. **The Veterinary Record**, 1979, v. 104, p. 332-334.

OLAH, I.; NAGY, N. MAGYAR, A. Basic structure of the bursa of Fabricius. Disponível em <http://www.oie.int/eng/nomes/mmanual/A-00086.htm>. Acesso em 29/05/2001.

PEJKOVSKI, C. DAVELAAR, F.G. KOUWNHOVEN, B. Immunosuppressive effect of infectious bursal disease virus on vaccination against infectious bronchitis. **Avian Pathology**, 1979, v.8, p.95-106.

PEREIRA, R.A. Relação entre a população linfocitária bursal e o diâmetro da bolsa de Fabricio em frangos de corte. [**Dissertação de Mestrado**]. Universidade Fedral do Rio Grande do Sul, 2002, Porto Alegre, 46p.

RAUTENSCHLEIN, S.; YEH, H.Y.; SHARMA, J.M. Comparative immunopathogenesis of mild, intermediate, and virulent strains of classic infectious bursal disease virus. **Avian Diseases**, 2003; 47, p. 66-78.

RODRIGUES, O. ; PEREIRA, R. A . Paradoxos da doença infecciosa da bursa (DIB). **Revista Sanidade Avícola**, Rio Grande do Sul, 2002. n.8, p. 4-5.

ROSENBERG, J.K.; CLOUD, J. The effects of age, route of exposure, and coinfection with infectious bursal disease virus on the pathogenicity and transmissibility of chicken anemia agent. **Avian Diseases**, 1989; v.33, p. 753-759.

SALLE, C.T.P.; CÉ, M.C.; WALD, V.B.; SANTOS, C.H.C.; NASCIMENTO, V.P.; CANAL, C.W.; MORAES, H.L.S. Estabelecimento de critérios de interpretação de resultados sorológicos de matrizes de corte, através de modelos matemáticos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, 1999, v.1, p. 61-65.

SALLE, C.T.P.; SILVA, A.B. Prevenção de doenças/ Manejo profilático/ Monitoração. In: BELCHIERI, J.R.; MACARI, M. **Doença das aves**, Campinas, SP. FACTA, 2000, cap.1, p. 3-12.

SALLE, C.T.P. Importância dos anticorpos maternos na doença de Gumboro. **Avicultura e Suinocultura Industrial**, SP, 1989, n.957, p.112-114.

SAUKAS, T.N. Caracterização de amostra do vírus da doença infecciosa bursal (doença de Gumboro) isolada no Brasil [**Dissertação de Mestrado**]. Universidade Rural do Rio de Janeiro, 1978. Rio de Janeiro, 88p.

SHAKYA, S.; JOSHI, K.R.; GUPTA, N.; CHAUHAN, S.V.H. Organ culture of chicken bursa as a model to study the pathogenicity of infectious bursal disease virus isolates. **Avian Diseases**, 1999; 43, p. 167-171.

SHARMA, J.M.; DOHMS, J.E.; METZ, A.L. Comparative pathogenesis of serotype 1 and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific-pathogen-free chickens. **Avian Diseases**, 1989, 33, p. 112-124.

SHARMA, J.M. Imunidade e doenças imunossupressoras de aves. Disponível em <http://www.avisite.com.br/cet/1/29/index.shtm>. Acesso em 13/12/2004.

SIVANANDAN, V.; MAHESWARAN, S.K. Immune profile of infectious bursal disease (IBD). Effect of IBD virus on pokeweed-mitogen-stimulated peripheral blood lymphocytes of chickens. **Avian Diseases**, 1980; 24, p. 734-742.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.S.P.; CASTRO, A.G.M.; KANASHIRO, P.; SILVESTRINI JÚNIOR, P. Avaliação sorológica comparativa entre dois esquemas de vacinação contra a DIB (Doença Infecciosa da Bursa). **Arq. Inst. Biol.**, 2000, São Paulo, v.67, n.2, p.161-165.

TSUKAMOTO, K.; TANIMURA, N.; KAKITA, S.; OTA, K.; MASE, M. IMAI, K.; HIHAARA, H. Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. **Avian Diseases**, 1995; 39, p. 218-229.

VAN DEN BERG, T.P.; MELEUMANS G. Acute infectious bursal disease in poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. **Avian Pathology**, 1991; 20, p. 133-143.

VAN DEN BERG, T.P. Acute infectious bursal disease in poultry: a review. **Avian Pathology**, 2000; 29, p.175-194.

VAN DEN BERG, T.P. Doença Infecciosa da Bursa: Patogenia e Imunossupressão In: Conferência APINCO, 2004, Santos, SP. **Anais**, p. 207-215.