

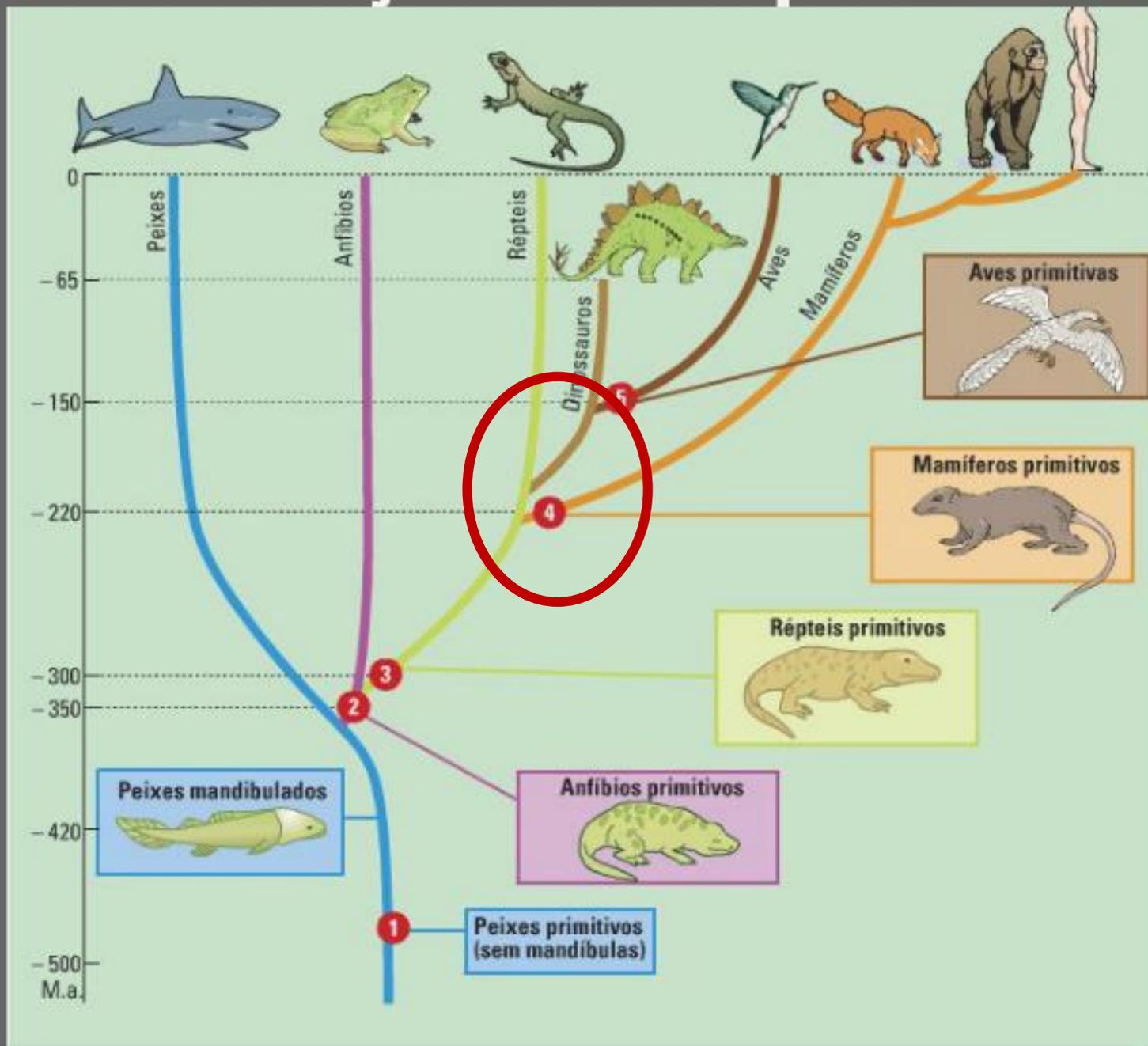


# Imunologia Aviária

Profa Dra Helena Lage Ferreira

ZMV1360 – Epidemiologia e Diagnóstico de doenças aviárias

# Evolução das espécies



# Crucial para o desenvolvimento de vacinas

- Primeira vacina atenuada- Desenvolvido por Pasteur
  - Cólera aviária
- Primeira vacina contra um câncer
  - Doença de Marek

# TECIDOS LINFÓIDES

# Órgãos Linfóides: Distribuição

**Órgãos primários:** regulam o desenvolvimento do sistema imune humoral e celular

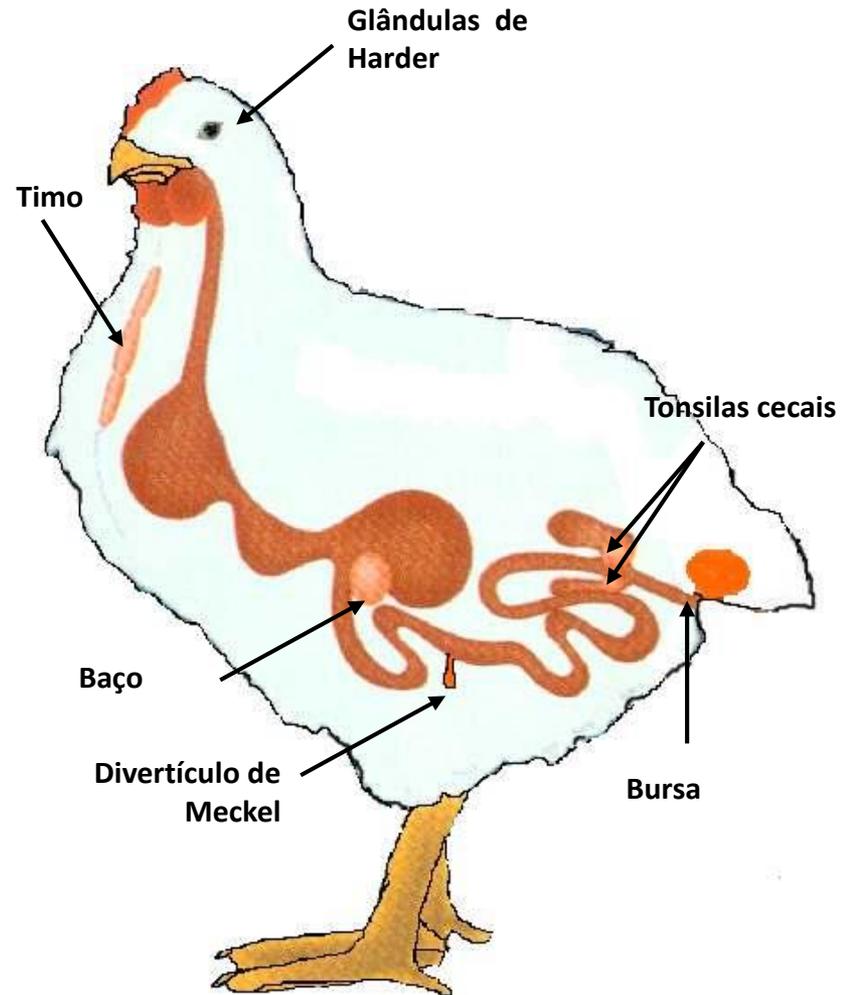
**Bursa de Fabrício:** Sistema imune humoral

**Timo:** Sistema imune celular

**Órgãos periféricos:** baço, tecidos linfóides associados ao intestino, brônquios e cabeça (GALT, BALT and HALT).

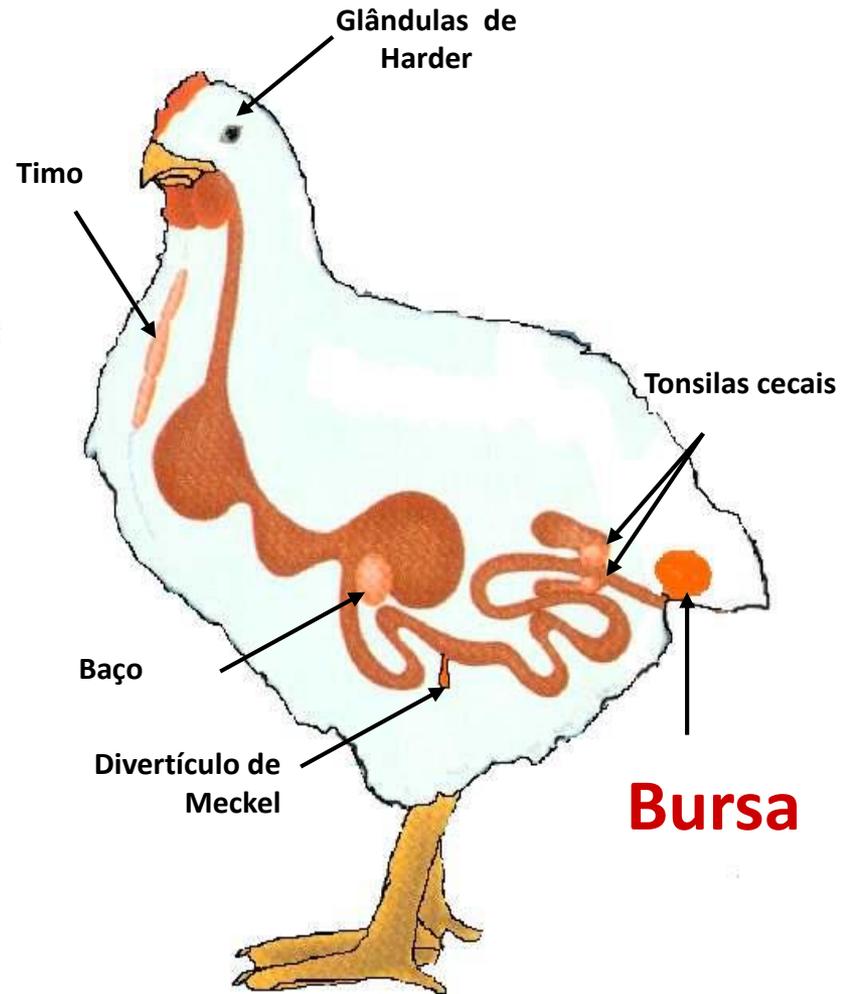
Galinhas não possuem linfonodos

Primeiro local para apresentação do antígeno em mamíferos



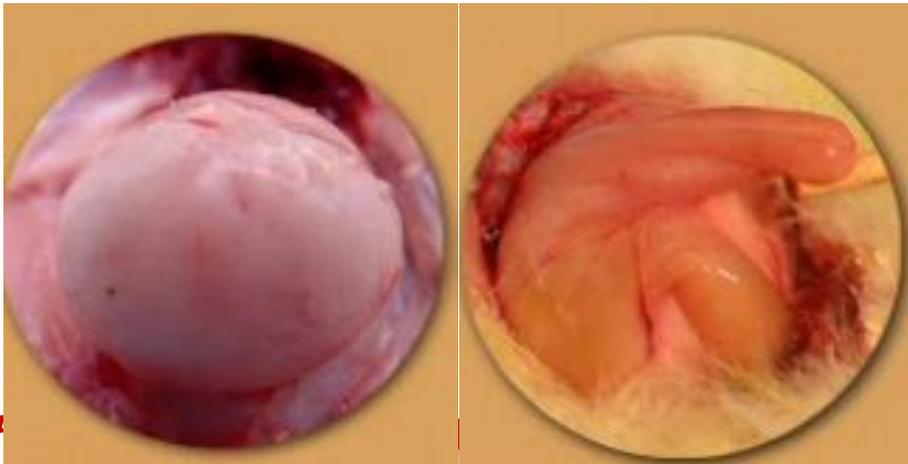
# Bursa de Fabrício

- Essencial para o desenvolvimento de células B (diversificação de imunoglobulinas e amplificação.)
- Apenas 5% do total do número de células sobrevivem para formar a população de células B maduras.
- Involui com a evolução da maturidade sexual.
- Órgão restrito às aves.

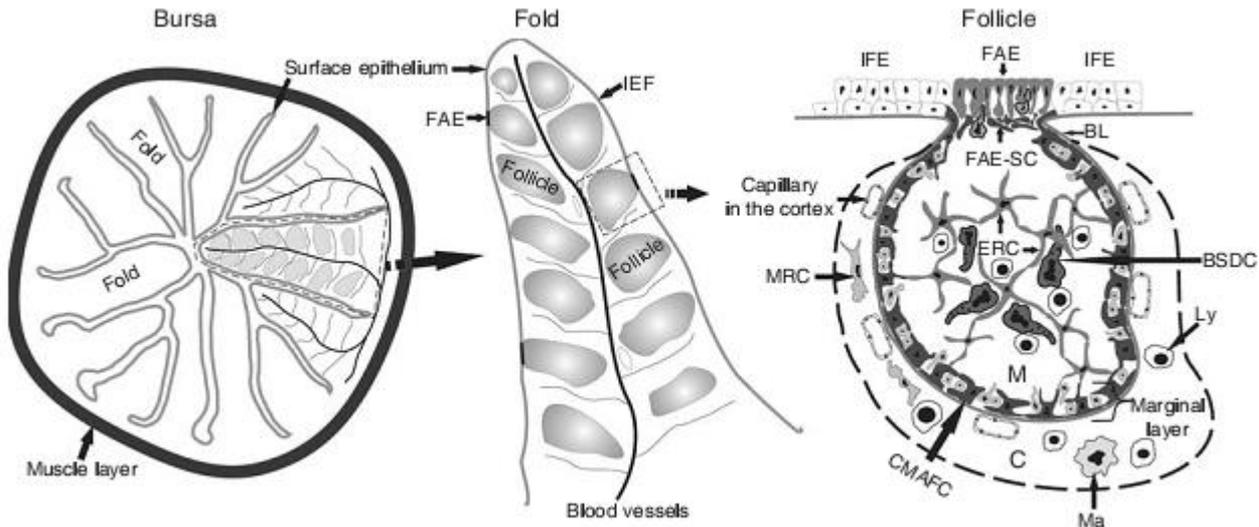
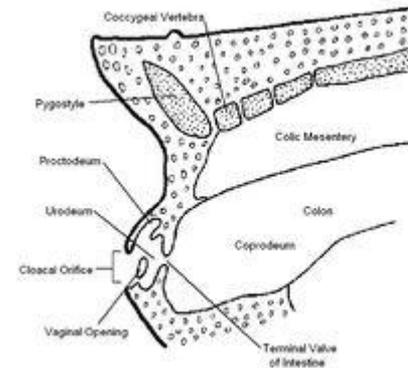


# Bursa de Fabrício

- Forma variável
  - espécie
- Pico do desenvolvimento
  - Entre 1m e 3 meses
  - Importante para vacinação!
- Involução após 3 meses

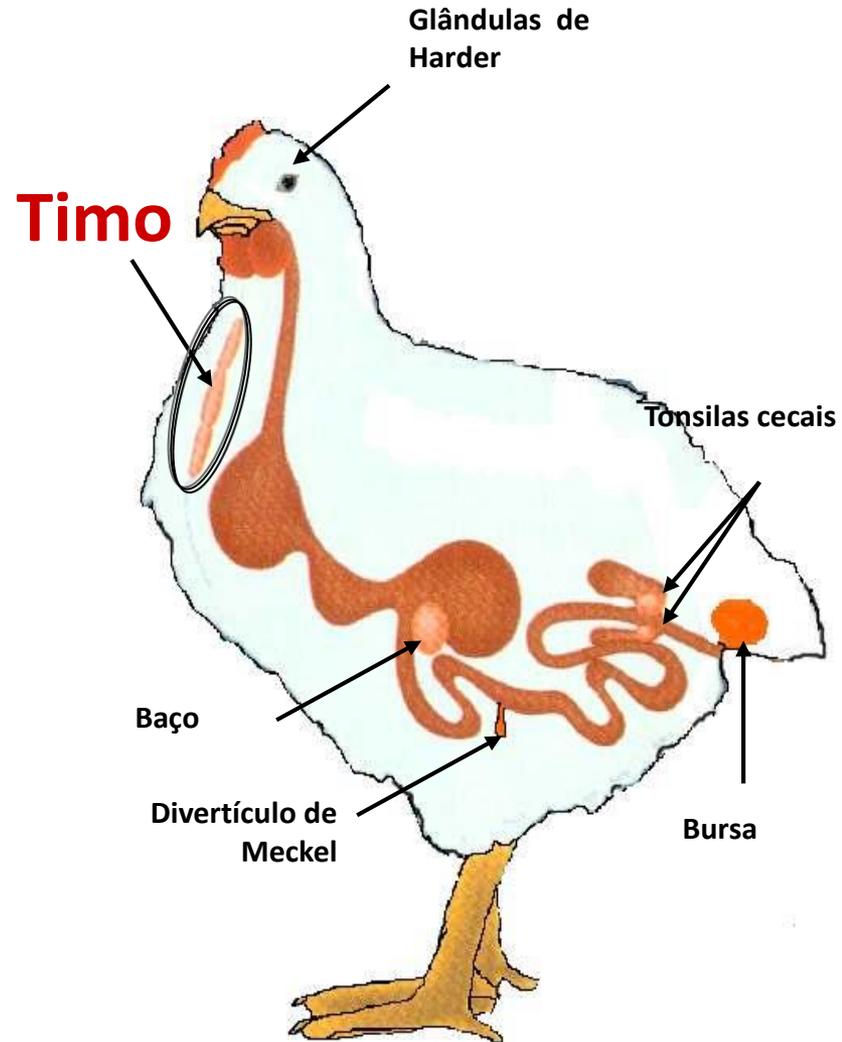


# Bursa de Fabrícicus

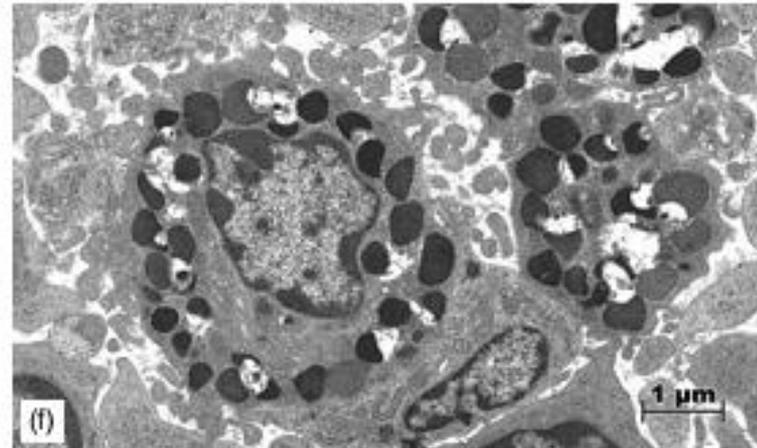
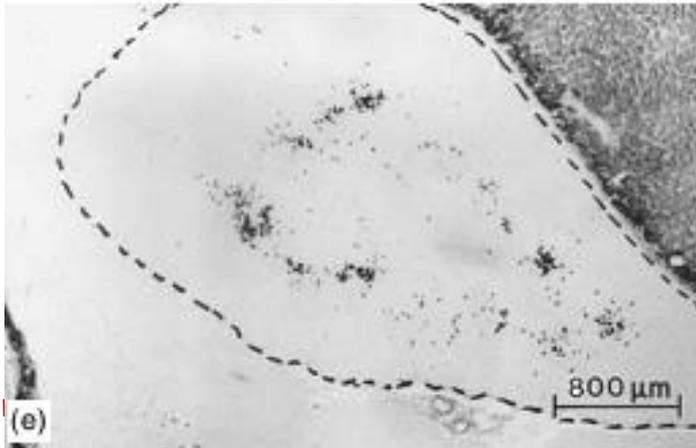
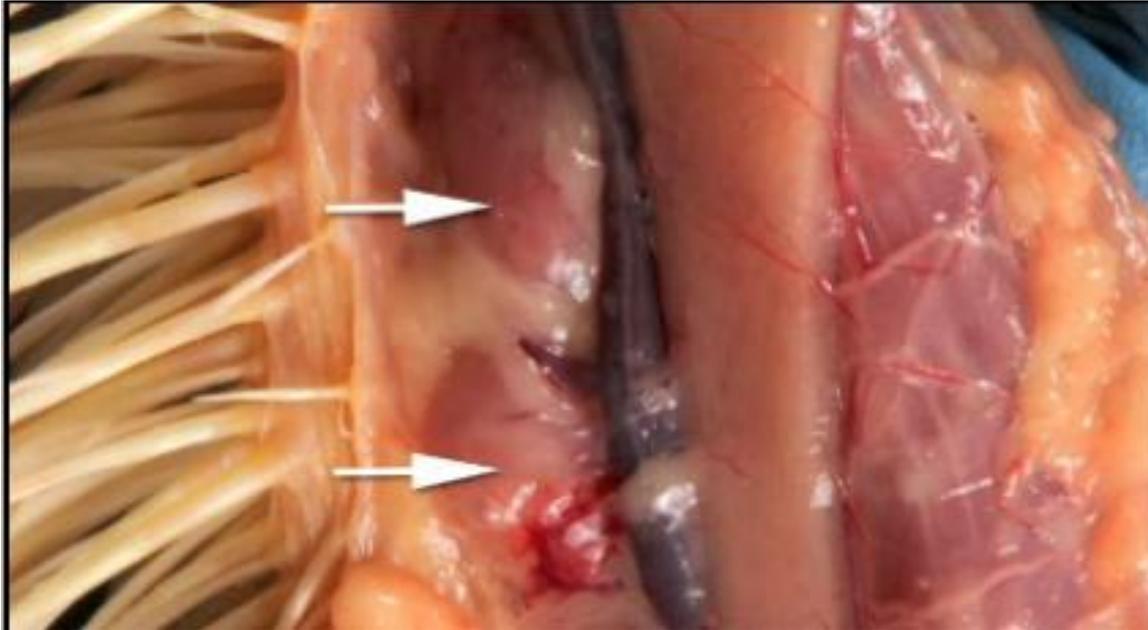


# Timo

- Desenvolvimento de células Th
  - Modulam a produção de anticorpos
  - Ativação de macrófagosResposta citotóxica.
- Células T emigram
- Involui com a evolução da maturidade sexual

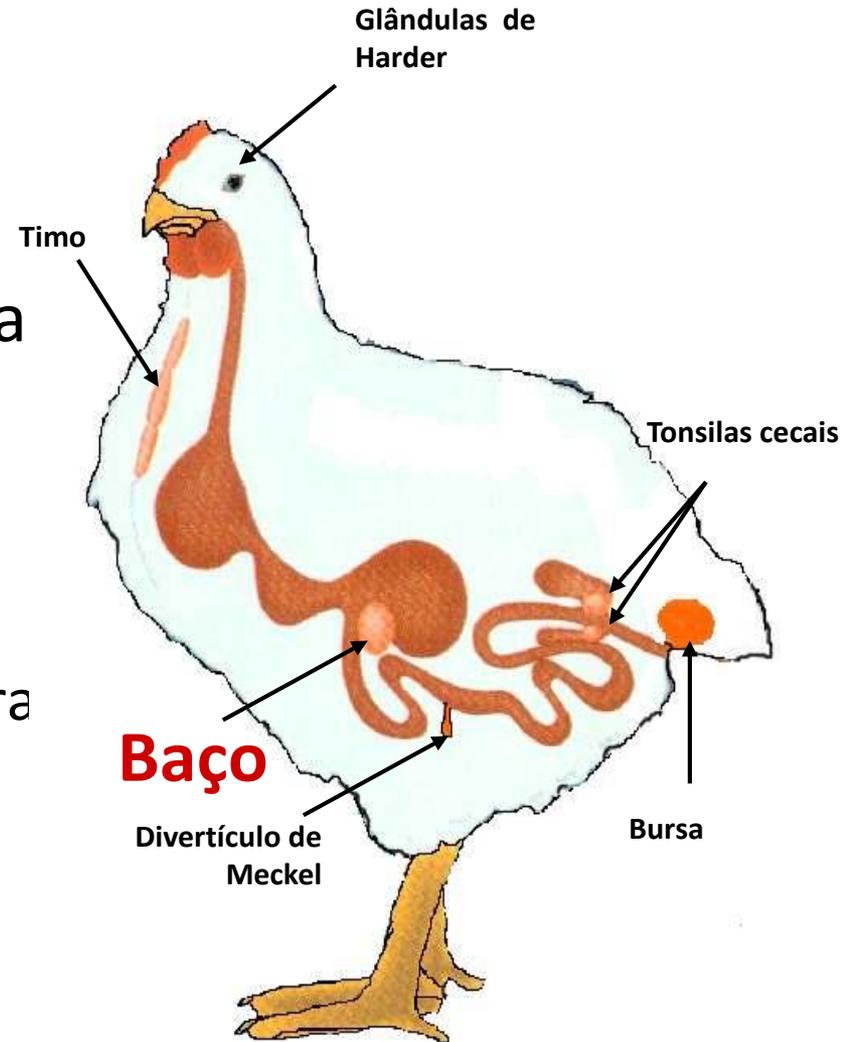


# Timo



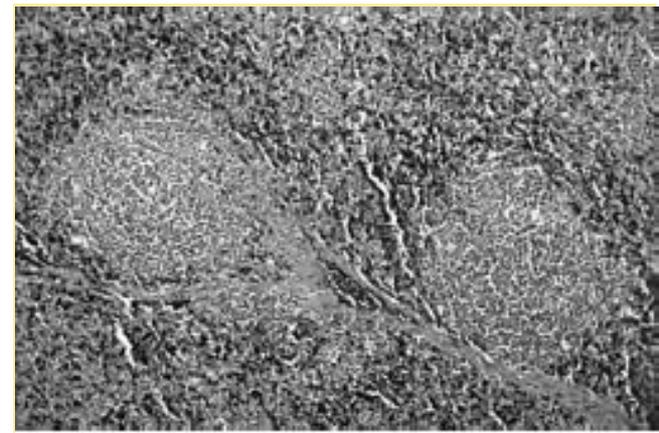
# Baço

- Importante para o processamento de antígeno
- Produção de anticorpos após a eclosão.
- Órgão primário após a involução do timo e da bursa
  - fornecendo células linfóides para os órgãos periféricos.

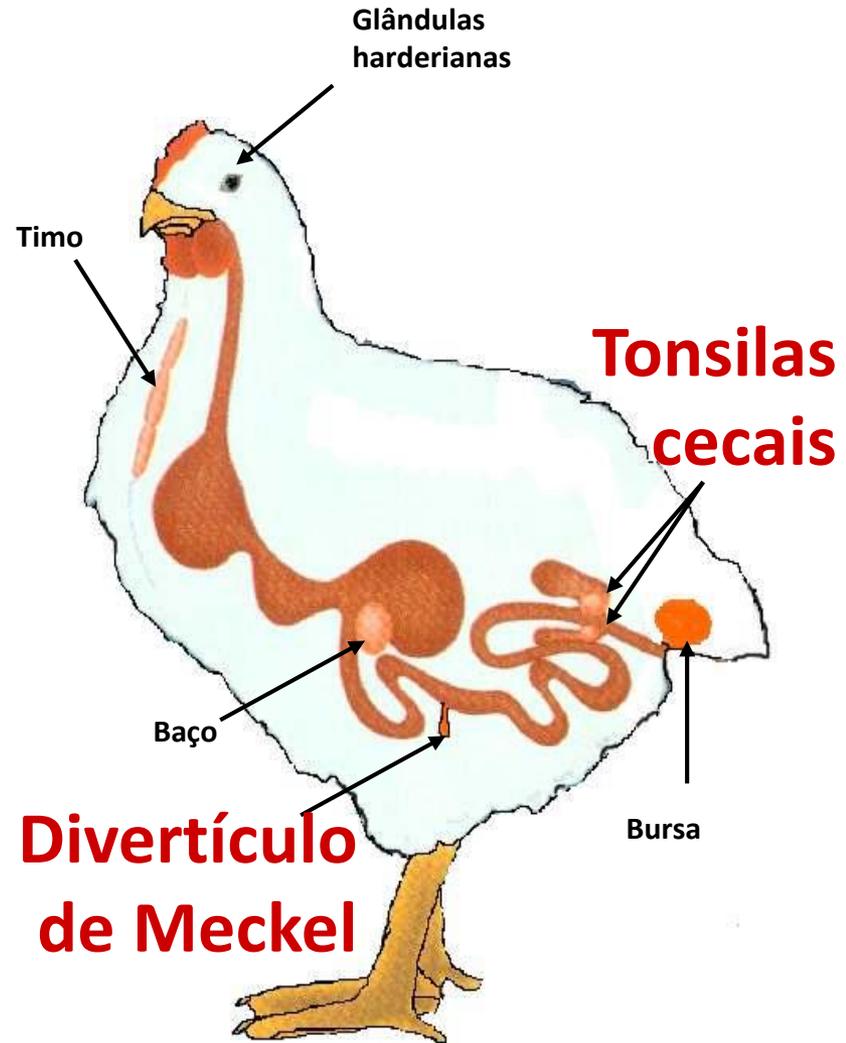


# Baço

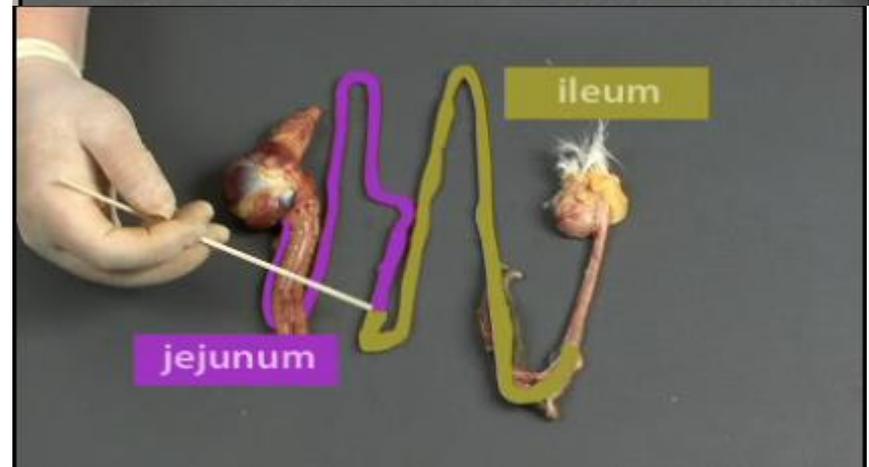
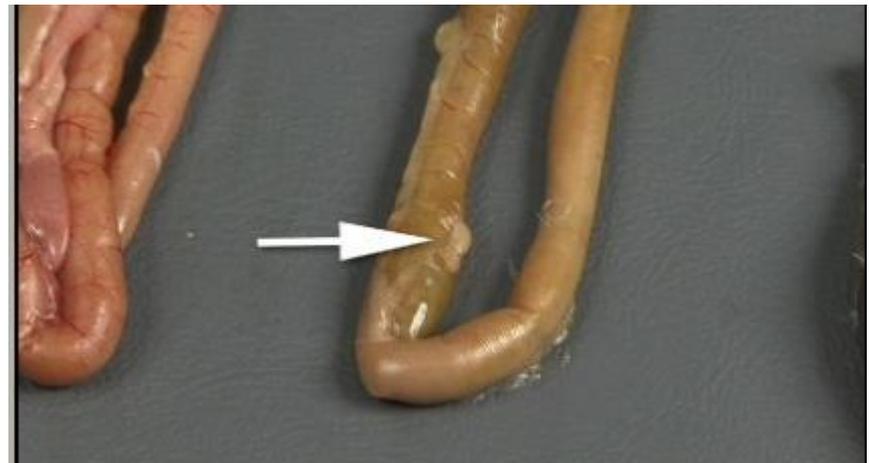
- Polpa Vermelha
- Polpa Branca



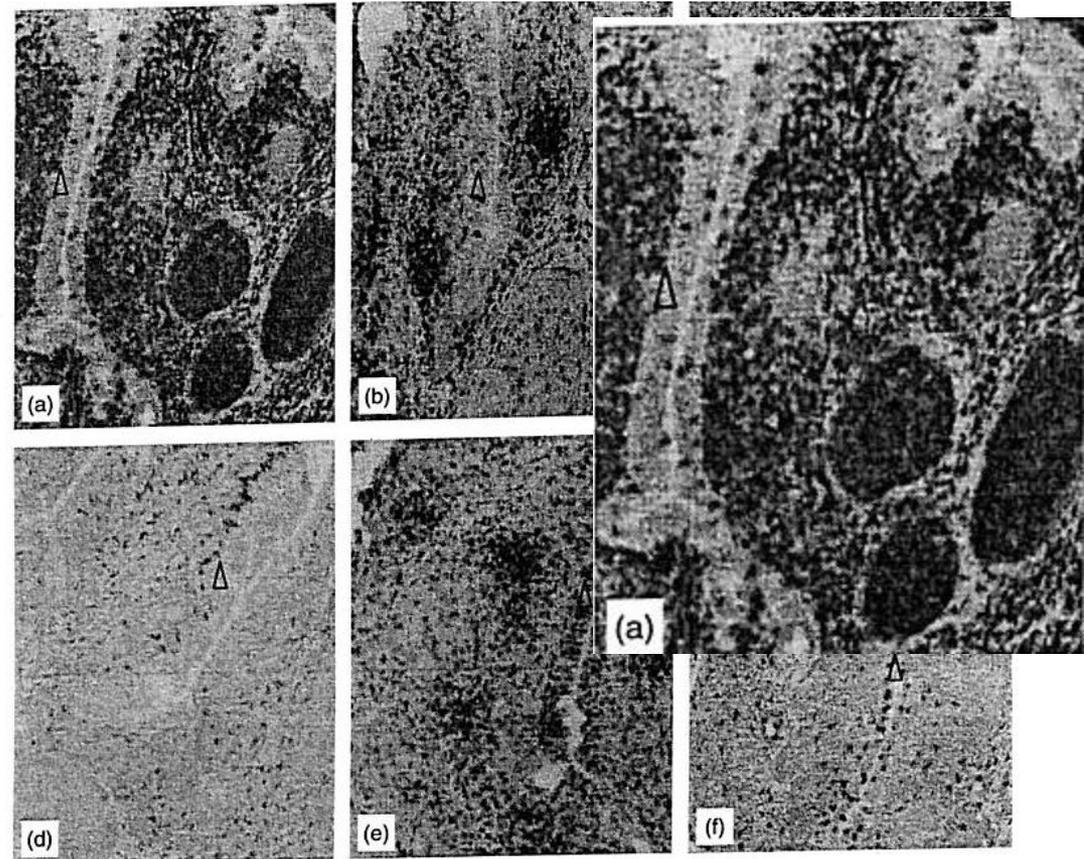
# GALT



# GALT: Divertículo de Merckel

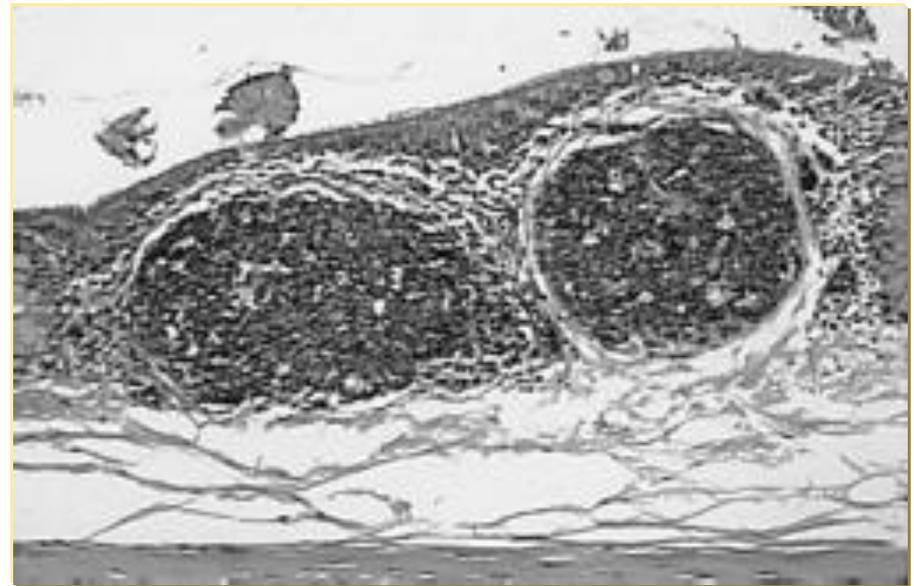
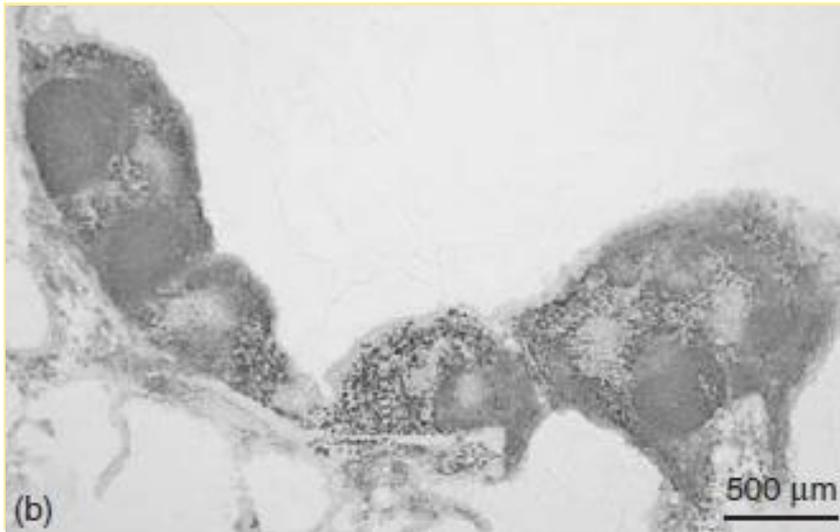
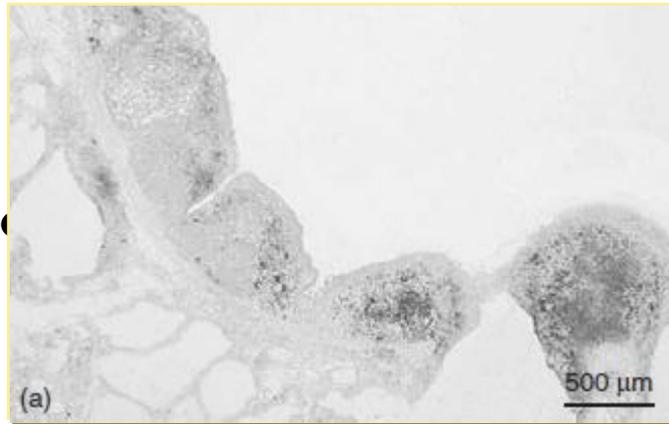


# GALT: Tonsilas Cecais

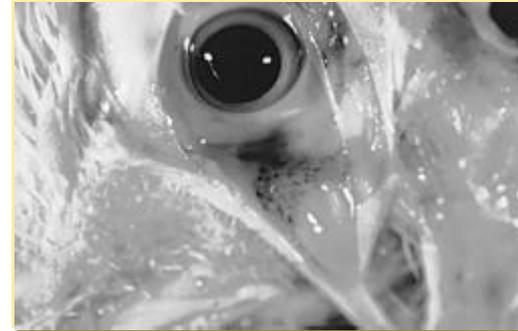
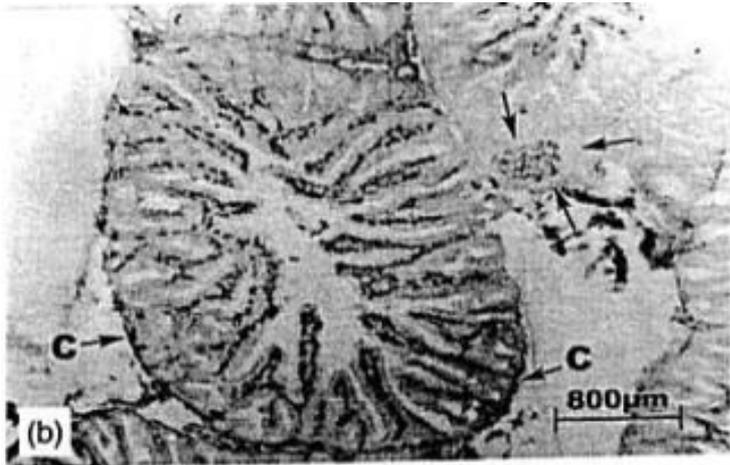


**FIGURE 2.7** Detailed structure of the chicken caecal tonsil. Caecal tonsil; luminal side is located at the top. ChB6<sup>+</sup> B cells (a) occur in the lamina propria, germinal centres (asterisk), and few in the epithelium (open triangle). CD4<sup>+</sup> cells (b) are located in the centre of the villi, in the interfollicular areas, and few in germinal centres. C8α<sup>+</sup> cells (c) are most prevalent in the epithelium and scattered through the lamina propria. KUL-01<sup>+</sup> macrophages (d) occur scattered through the lamina propria and form a lining under the epithelium. The location of αβ1-TCR<sup>+</sup> cells (e) is comparable to both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> cells, whereas αδ TCR<sup>+</sup> cells (f) are located mostly in the epithelium and subepithelial zone.

# BALT



# CALT ou HALT: Glândulas de Harder



# Imunidade Inata

**Células fagocitárias (macrófagos)**

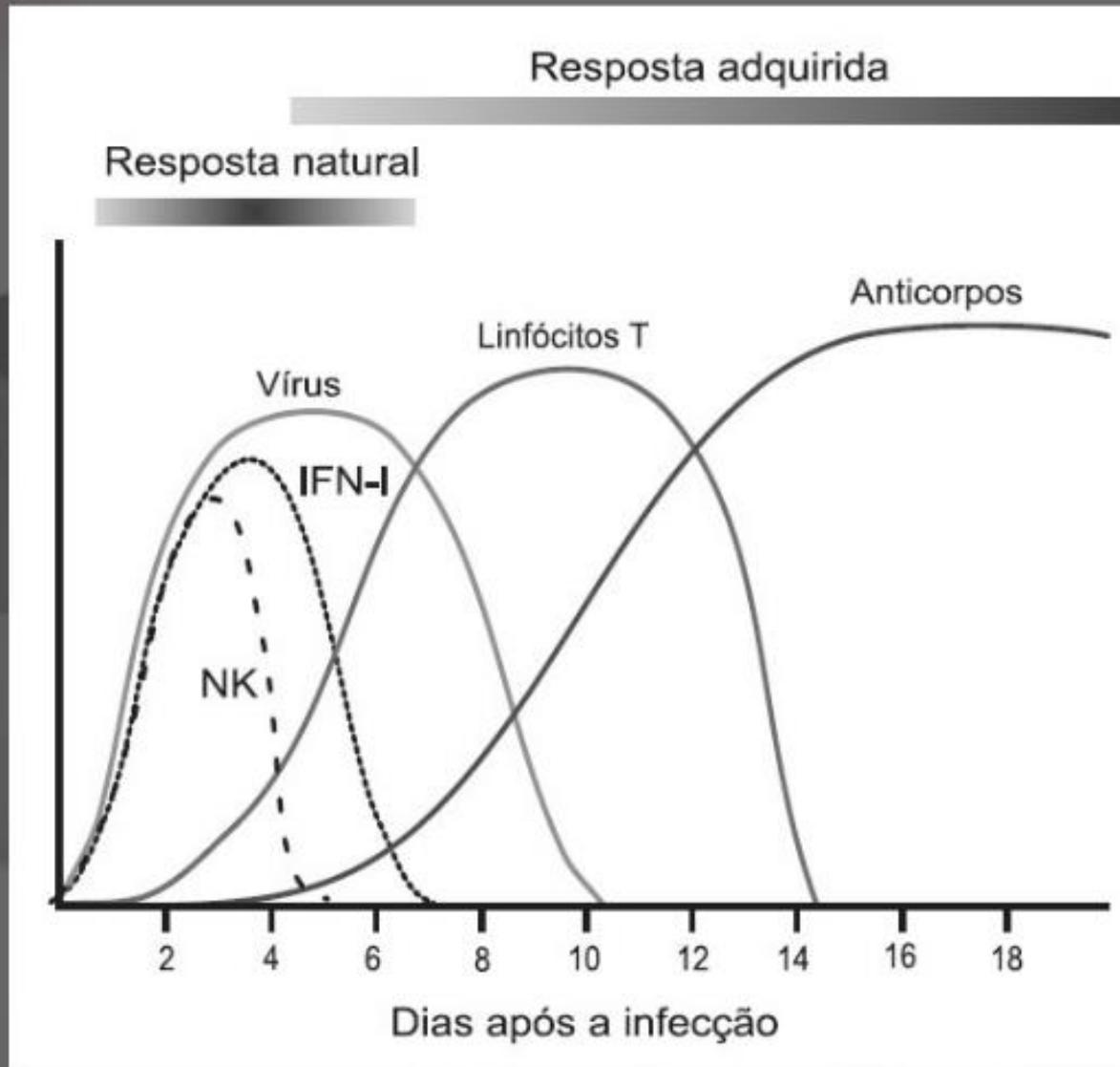
**Células dentríticas**

**Natural Killers**

**Sistema complemento**

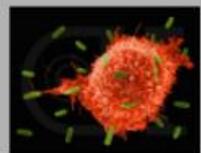
**Interferon tipo I**

# Sequência de Eventos da resposta imune



Kreutz. Resposta imunológica contra vírus. In: E.F. Flores. (Org.). Virologia Veterinária. 2aed. Santa Maria: Editora UFSM, 2012, p. 1-25.

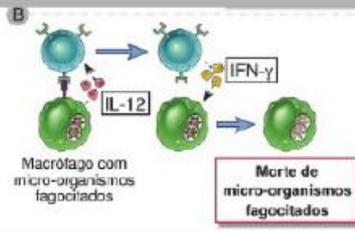
## Células Fagocitárias



macrófagos fagocitam bactérias e outros microrganismos.



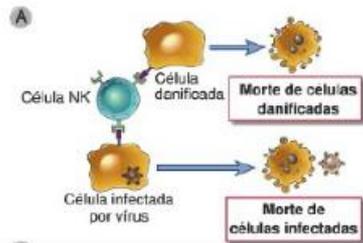
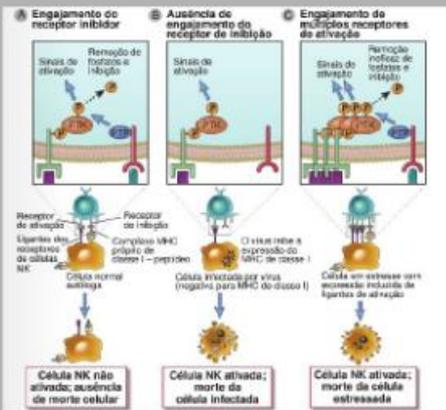
neutrófilo



Abbas et al. Imunologia celular e molecular, 7a edição

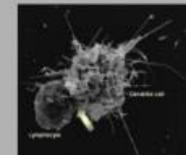
## Natural Killer

### Mecanismo de ação das células NK

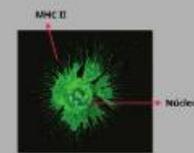
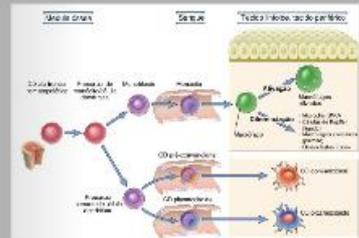


Abbas et al. Imunologia celular e molecular, 7a edição

## Células Dendríticas

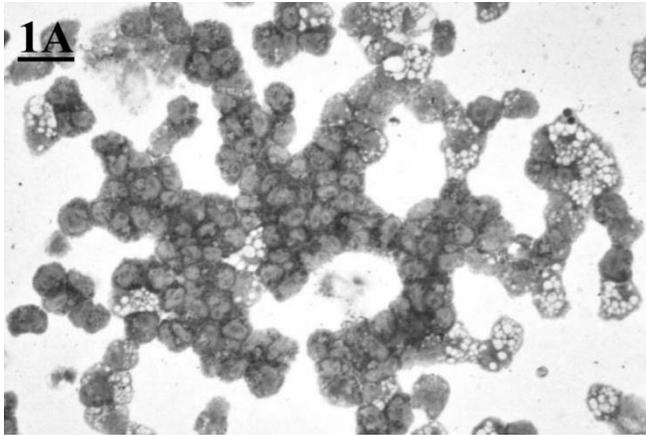


Células dendríticas: localizadas nos tecidos de forma fixa, servem para capturar e apresentar antígenos para células T.

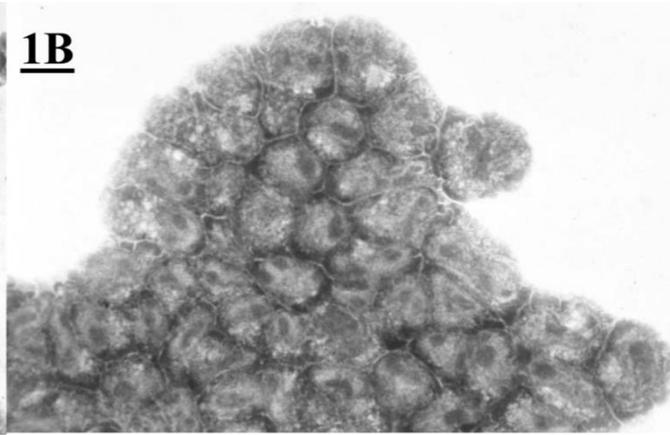


Abbas et al. Imunologia celular e molecular, 7a edição

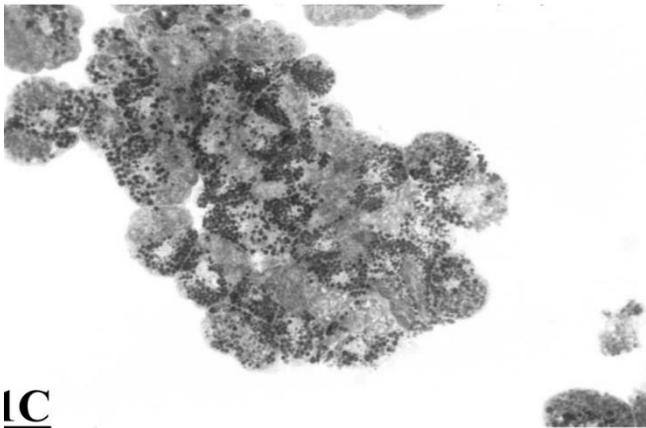
# Células



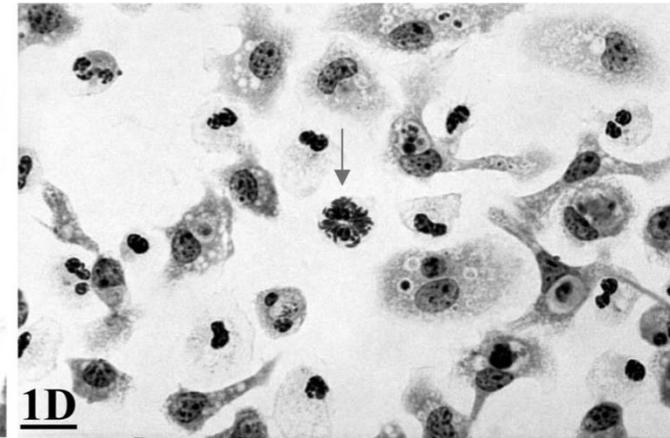
1A  
Bone-marrow derived macrophages



1B  
Bone-marrow derived heterophils

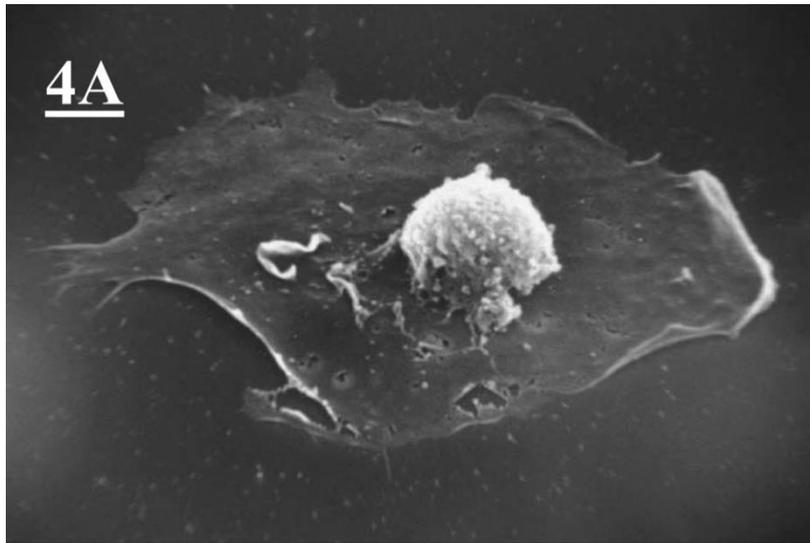


1C  
Bone-marrow derived basophils

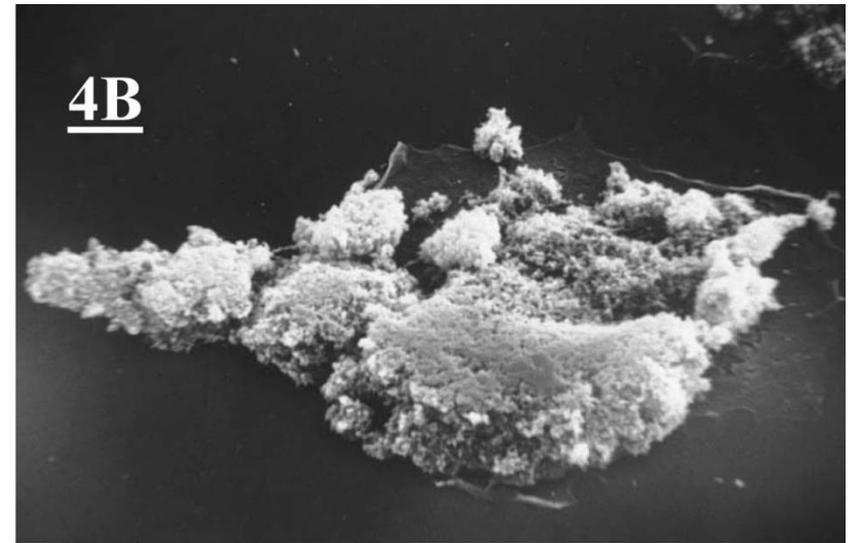


1D  
Inflammatory heterophils

# Macrófagos

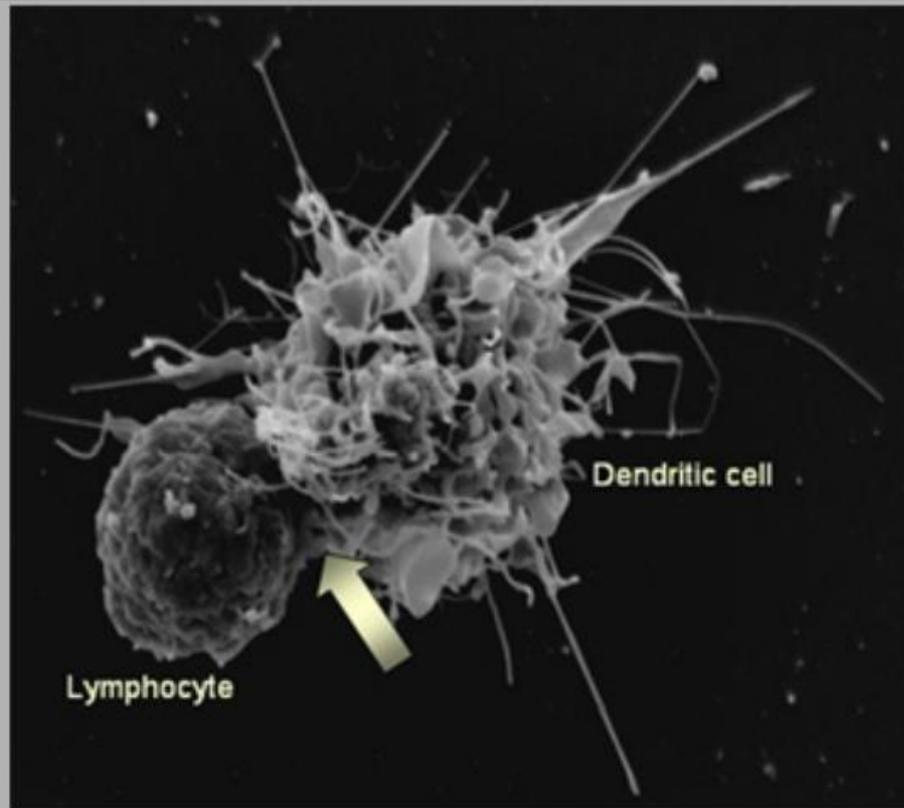


Normal Macrophage



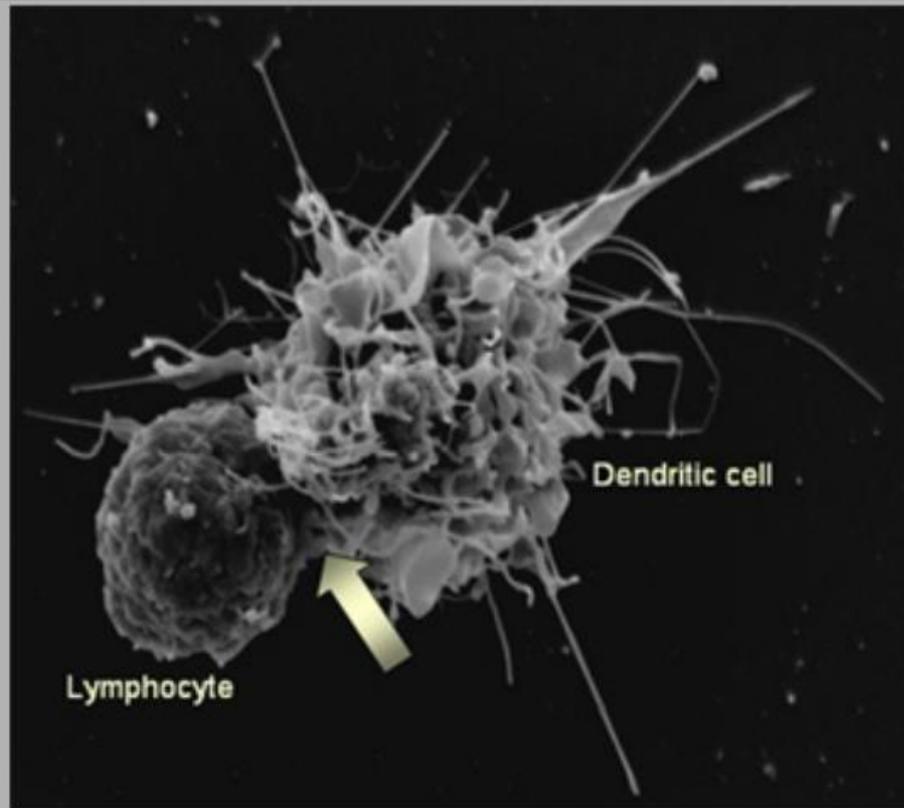
Macrophage + AFB-1 (EM)

# Células dendríticas



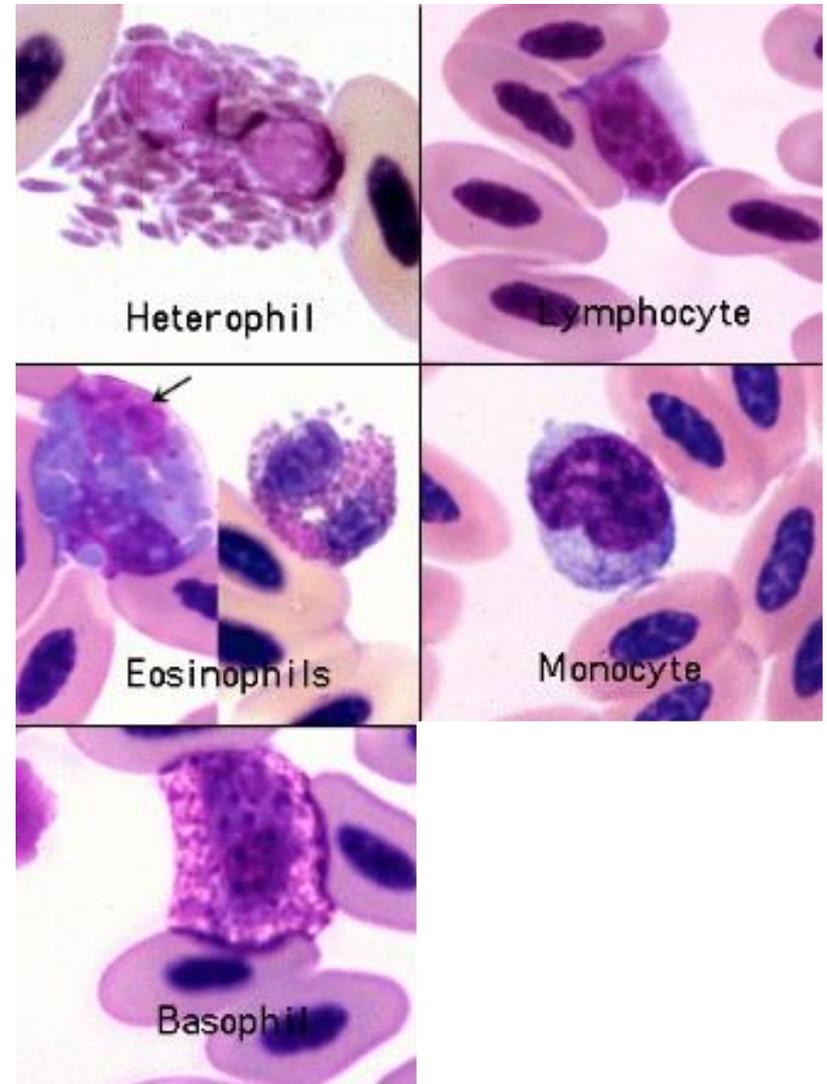
Células Dendríticas : Localizadas nos tecidos na forma imatura. Ativada pós infecção induz resposta inata

# Células dendríticas



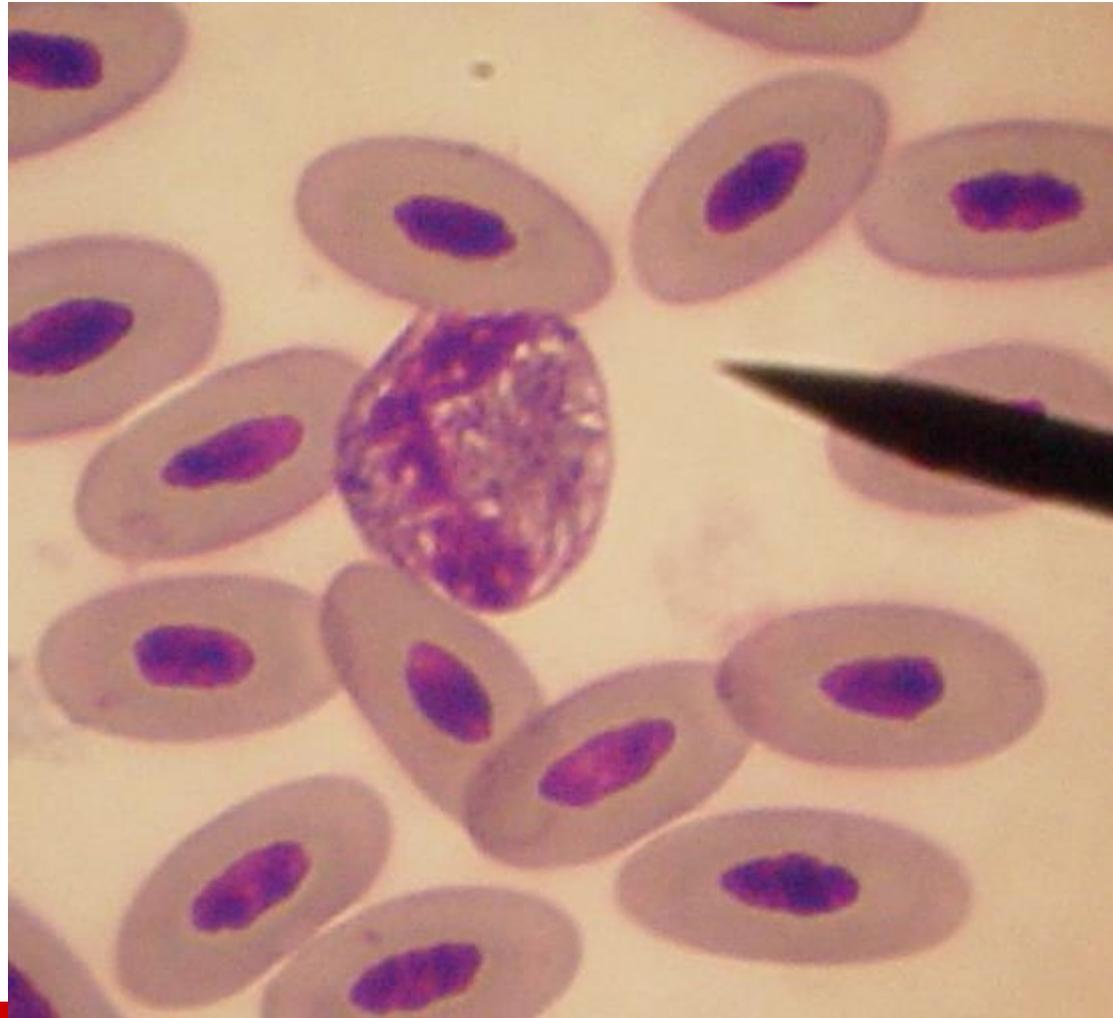
Células Dendríticas : Localizadas nos tecidos na forma imatura. Ativada pós infecção induz resposta inata

- Granulócitos
  - Heterófilos = Neutrófilos
  - Eosinófilos
  - Monócitos
  - Basófilos
  - Linfócitos

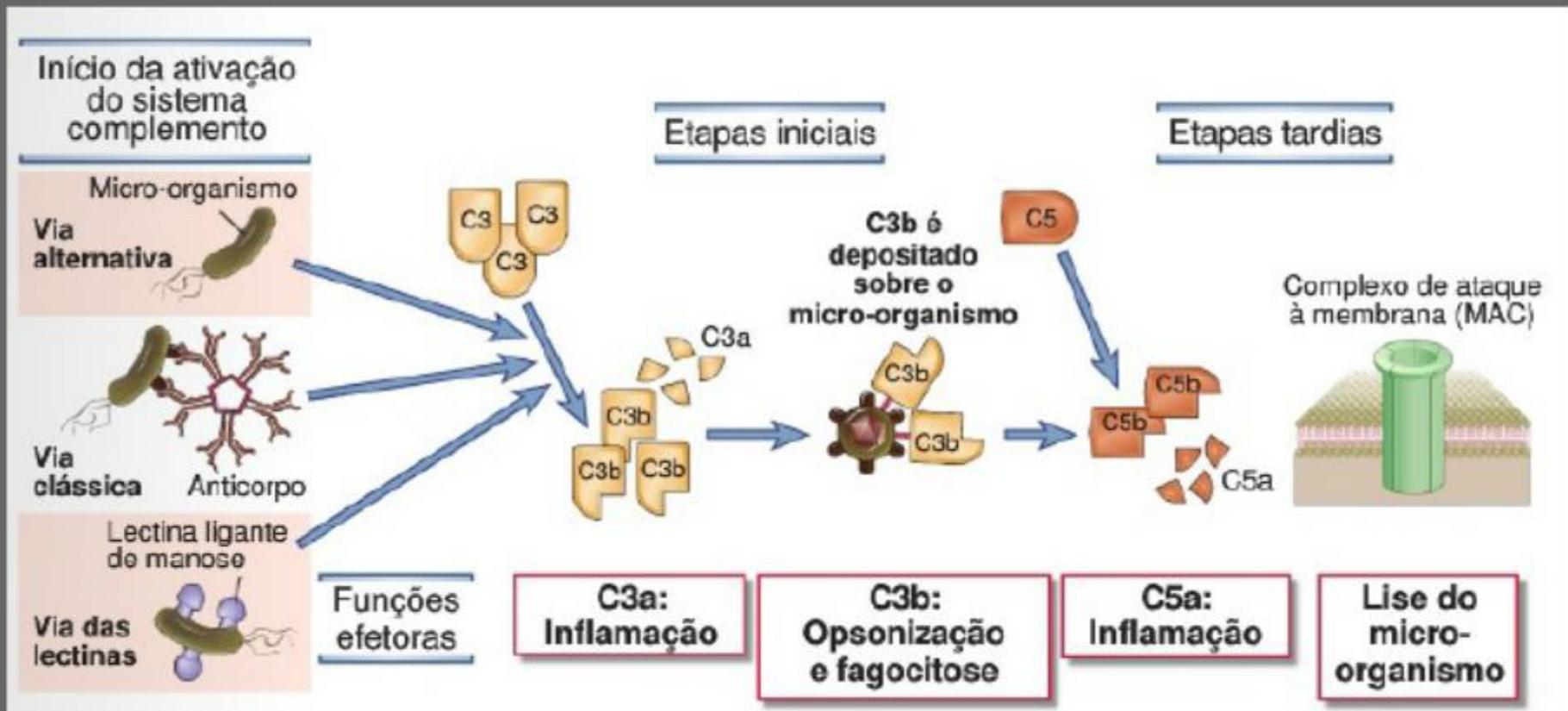


# Células Brancas

- Granulócitos
  - Heterófilos= Neutrófilos
- Aves não têm abscessos
  - Ausência de enzima em heterófilos

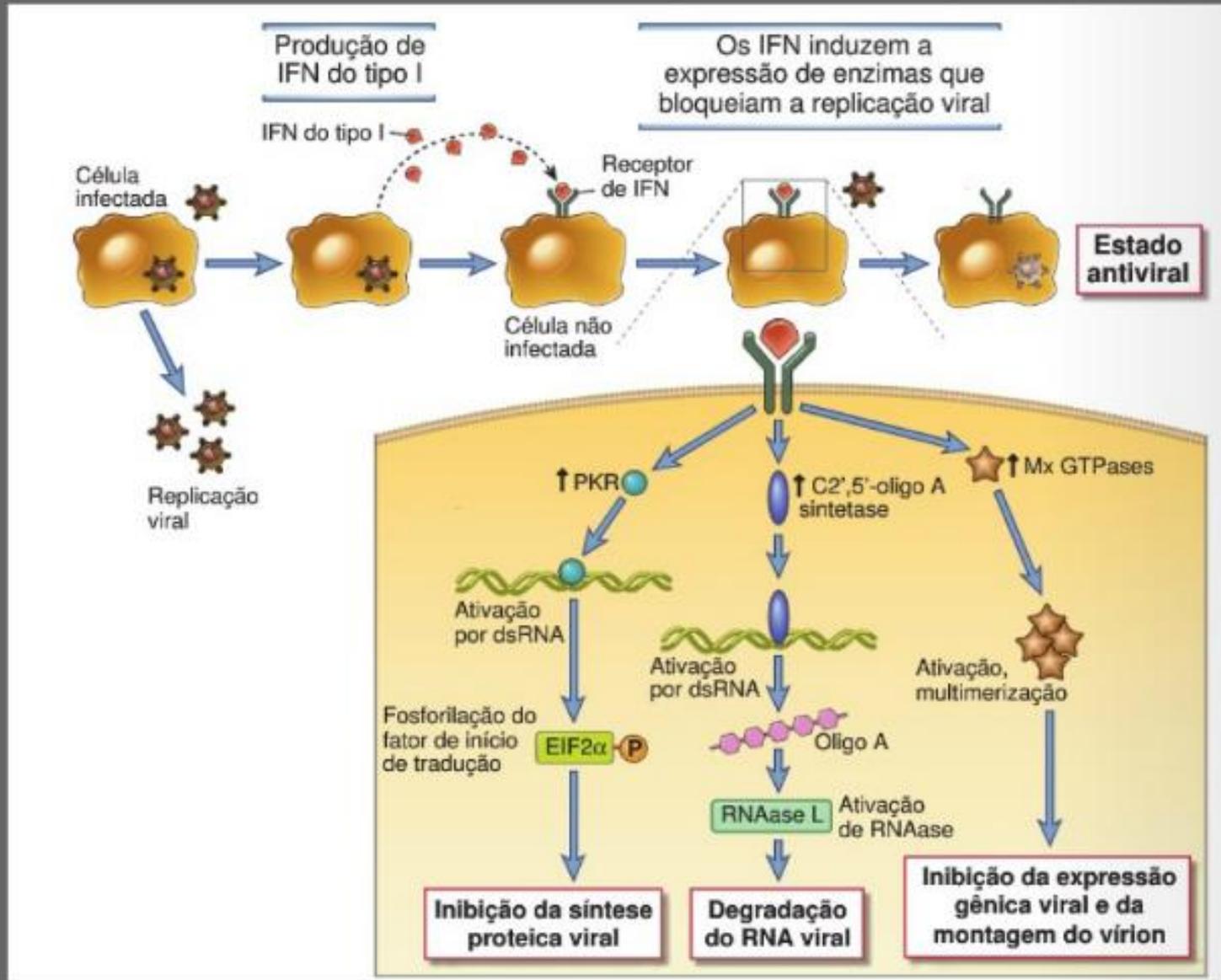


# Sistema complemento

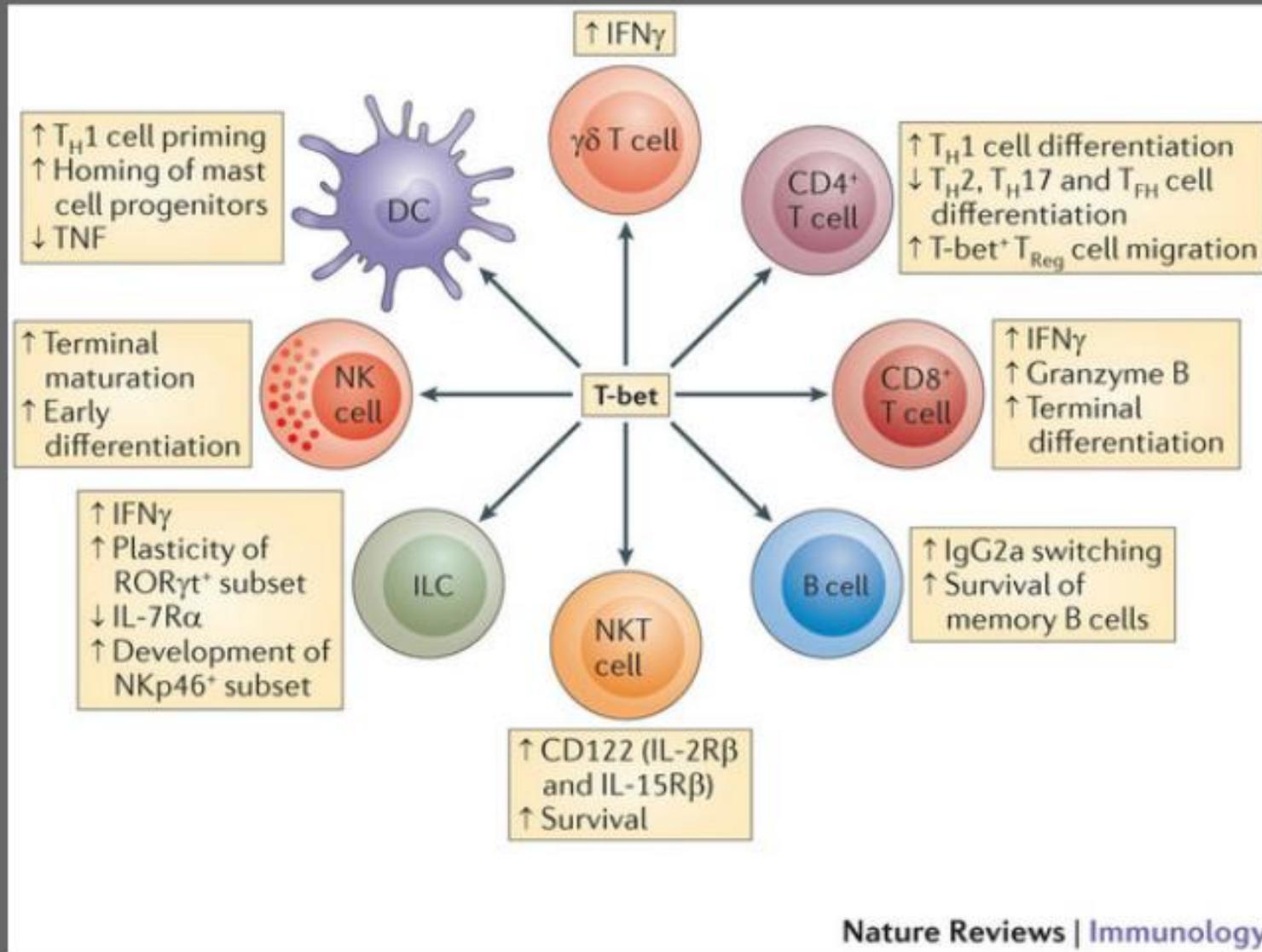


Abbas et al. Imunologia celular e molecular, 7a edição, 2012

# Estado antiviral: Interferon I

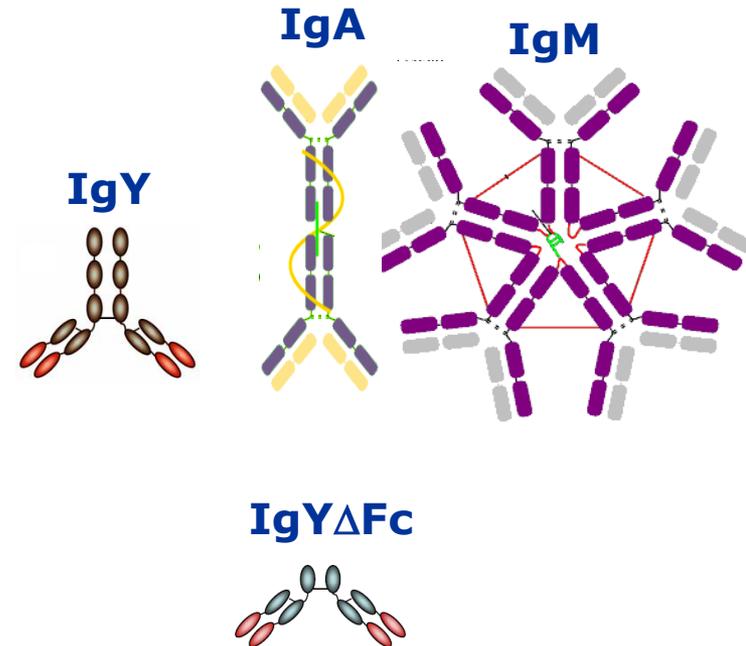


# Ponte entre Imunidade Inata e Adaptativa

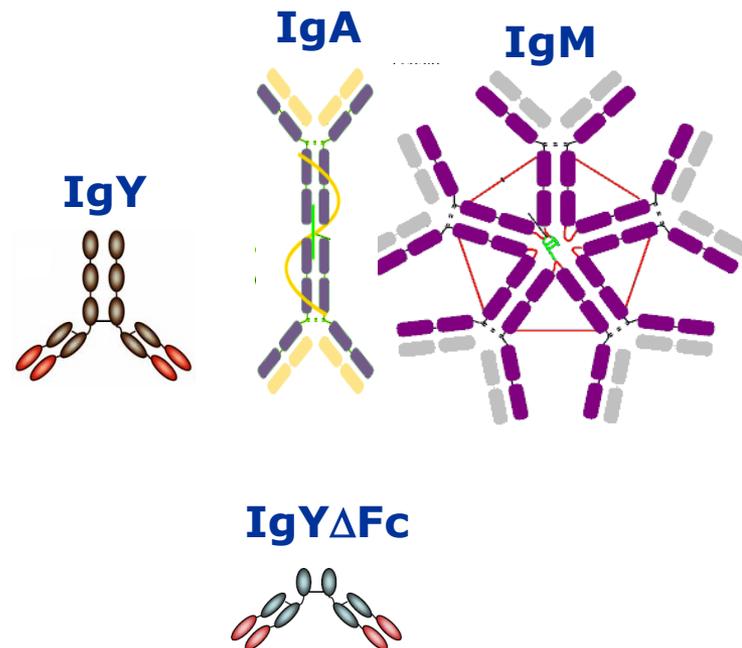
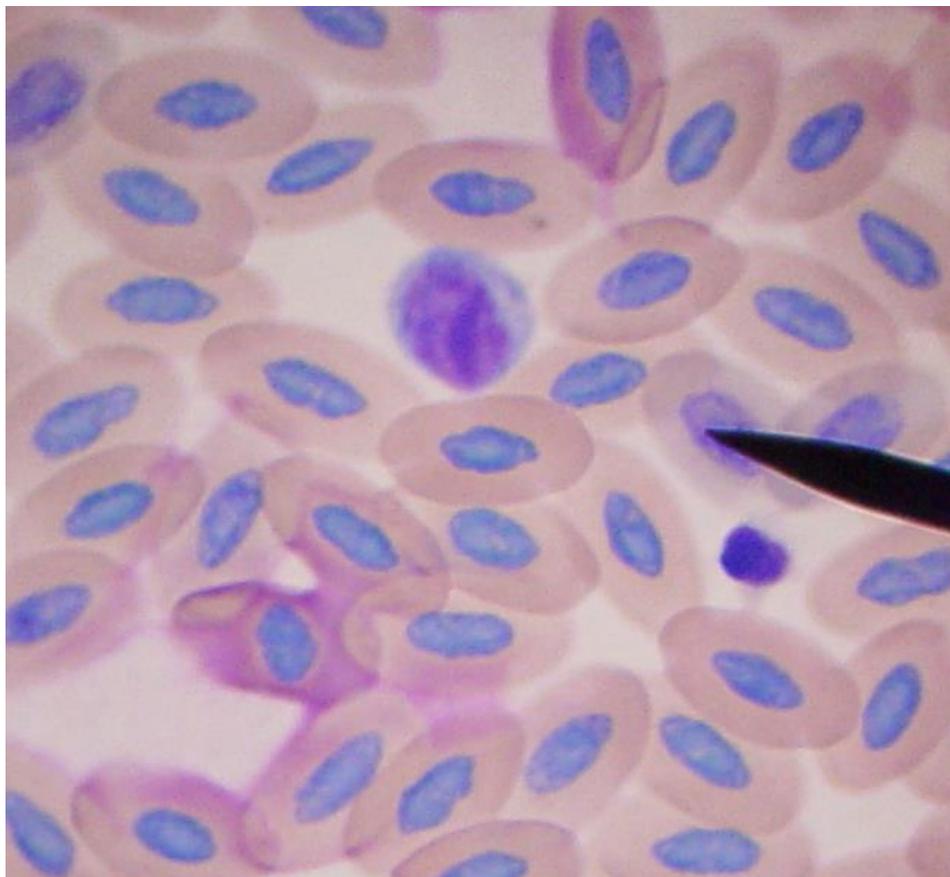


# Linfócitos

- Células B:
  - Produzem anticorpos: IgG (IgY), IgA e IgM
  - Estrutura similar a dos mamíferos
  - Anseriformes: IgY  $\Delta$ Fc
- Células T:
  - Regulam e ativam a resposta celular (CMI)
  - 2 tipos de receptores TCRab e TCRgd
  - $> n^\circ$  de células gdT em aves que em mamíferos
- Células Natural killer (NK):
  - Resposta imune contra patógenos intracelulares
  - Resposta inata (??)



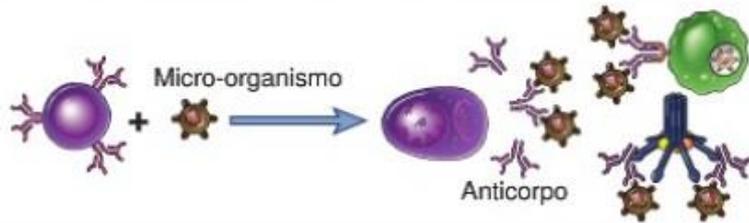
# Linfócitos



Reconhecimento do antígeno

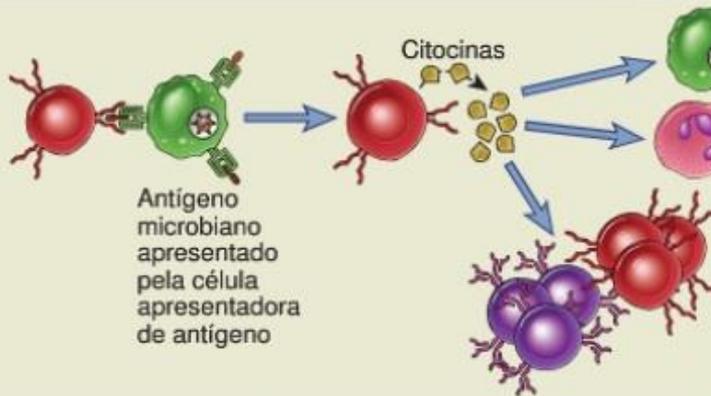
Funções efetoras

Linfócito B



Neutralização do micro-organismo, fagocitose, ativação do complemento

Linfócito T auxiliar



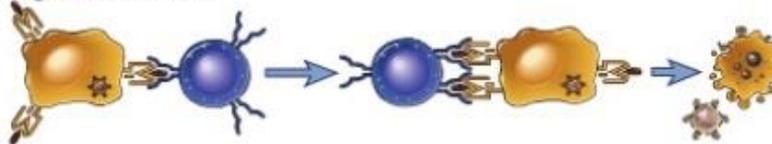
Ativação dos macrófagos

Inflamação

Ativação (proliferação e diferenciação) dos linfócitos T e B

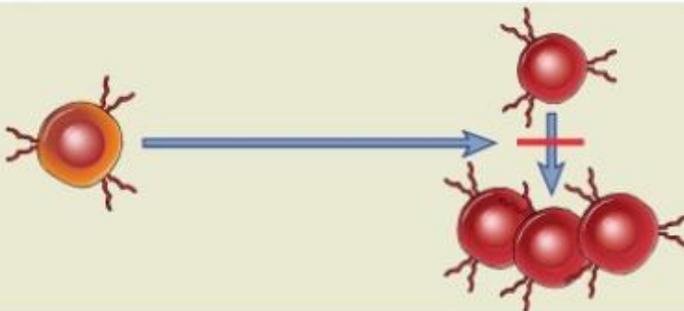
Linfócito T citotóxico (CTL)

Células infectadas expressando antígeno microbiano



Destruição da célula infectada

Linfócito T regulador



Supressão da resposta imunológica

Célula assassina natural (NK)



Destruição da célula infectada

# Apresentação do Antígeno

**TABELA 6-5 Características Comparativas das Vias de Processamento e Apresentação do Antígeno do MHC de Classe I e Classe II**

Característica	Via do MHC de Classe I	Via do MHC de Classe II
Composição do complexo peptídeo-MHC estável	Cadeia $\alpha$ polimórfica, $\beta$ -microglobulina, peptídeo 	Cadeias $\alpha$ e $\beta$ polimórficas, peptídeo 
Tipos de APC	Todas as células nucleadas	Células dendríticas, fagócitos mononucleares, linfócitos B; células endoteliais, epitélio do timo
Células T responsivas	Células T CD8 <sup>+</sup>	Células T CD4 <sup>+</sup>
Fonte de antígenos proteicos	Proteínas citosólicas (principalmente sintetizadas na célula; podem entrar no citosol por fagocitose)	Proteínas endossômicas e lisossômicas (principalmente internalizadas do meio extracelular)
Enzimas responsáveis pelo carregamento de peptídeos do MHC	Proteassoma citosólico	Proteases endossômicas e lisossômicas (p. ex., catepsinas)
Local de encaixe de peptídeos ao MHC	Reticulo endoplasmático	Compartimento vesicular especializado
Moléculas envolvidas no transporte de peptídeos e disponíveis para as moléculas do MHC	Chaperonas, TAP no RE	Chaperonas no RE; cadeia invariante no RE, Golgi e MHC/CIIV; DM
<p>APC, célula apresentadora de antígenos; CIIV, vesícula de classe II; RE, retículo endoplasmático; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; MII, compartimento do MHC de classe II; TAP, transportador associado ao processamento de antígenos.</p>		

# MHC



Human



Chicken

# Citocinas e Quimiocinas

## Regulam a resposta imunológica e inflamação

Citocinas: Produzidas por macrófagos e células T

Quimiocinas: Regulam o tráfico de leucócitos

Resumindo, já foram descritos mais de...

- 23 interleucinas (ILs)
- 8 interferons tipo I e IFN-gamma
- 1 fator estimulador de colônia (GM-CSF)
- 2 fator de crescimento (TGFs)
- 10 fator de necrose tumoral- membros da superfamília (TNFSF)
- 24 quimiocinas (1XCL, 14CCL, 8CXCL and 1 CX3CL)

# Citocinas e Quimiocinas

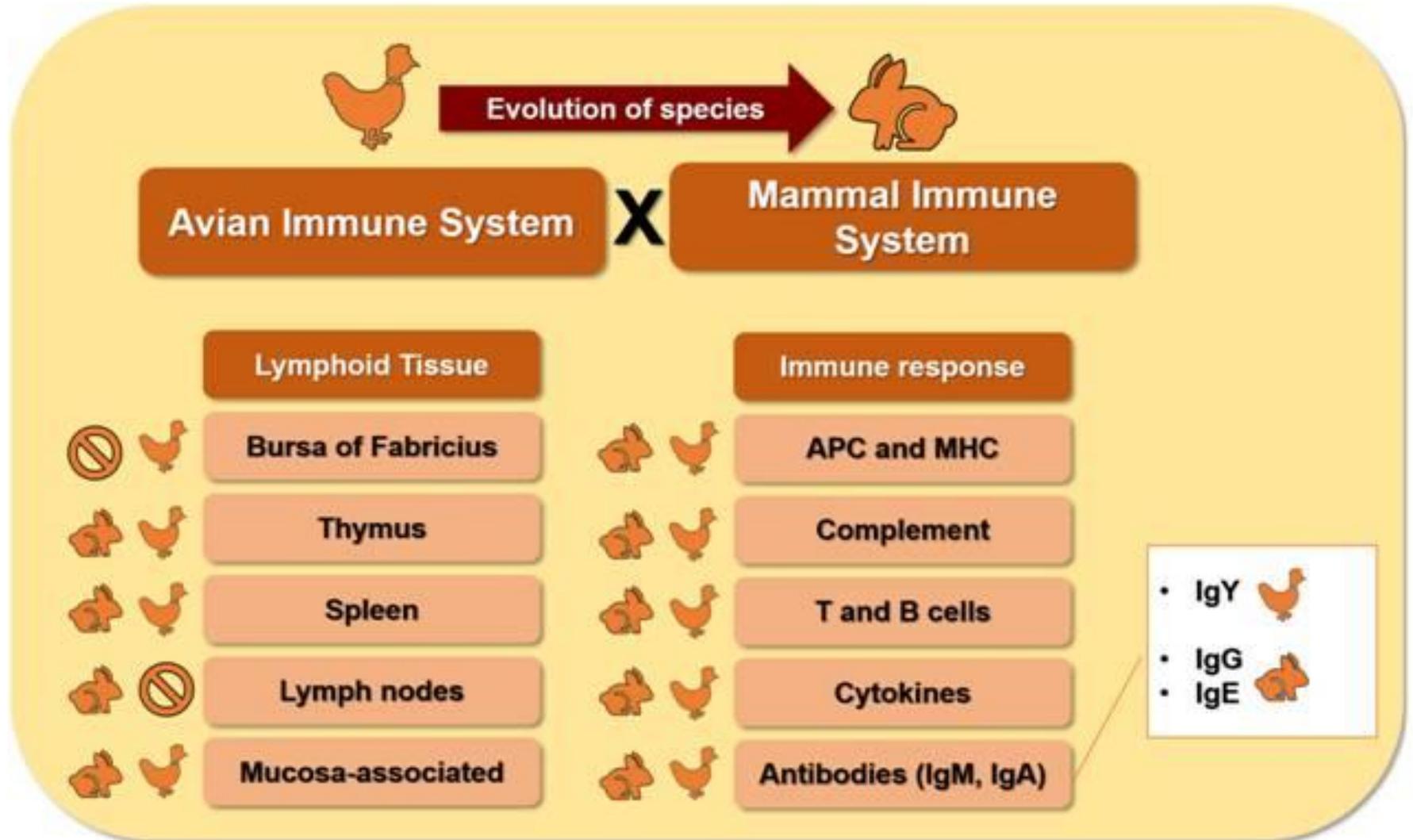
**Table 1** – Currently described chicken cytokines classified on basis of function.

Functional classification	Described chicken cytokines
Pro-inflammatory	IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8
Th1	IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-18
Th2	None described
Th3/Tr1	TGF- $\beta$
Others	IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IL-15, IL-16, chemokines

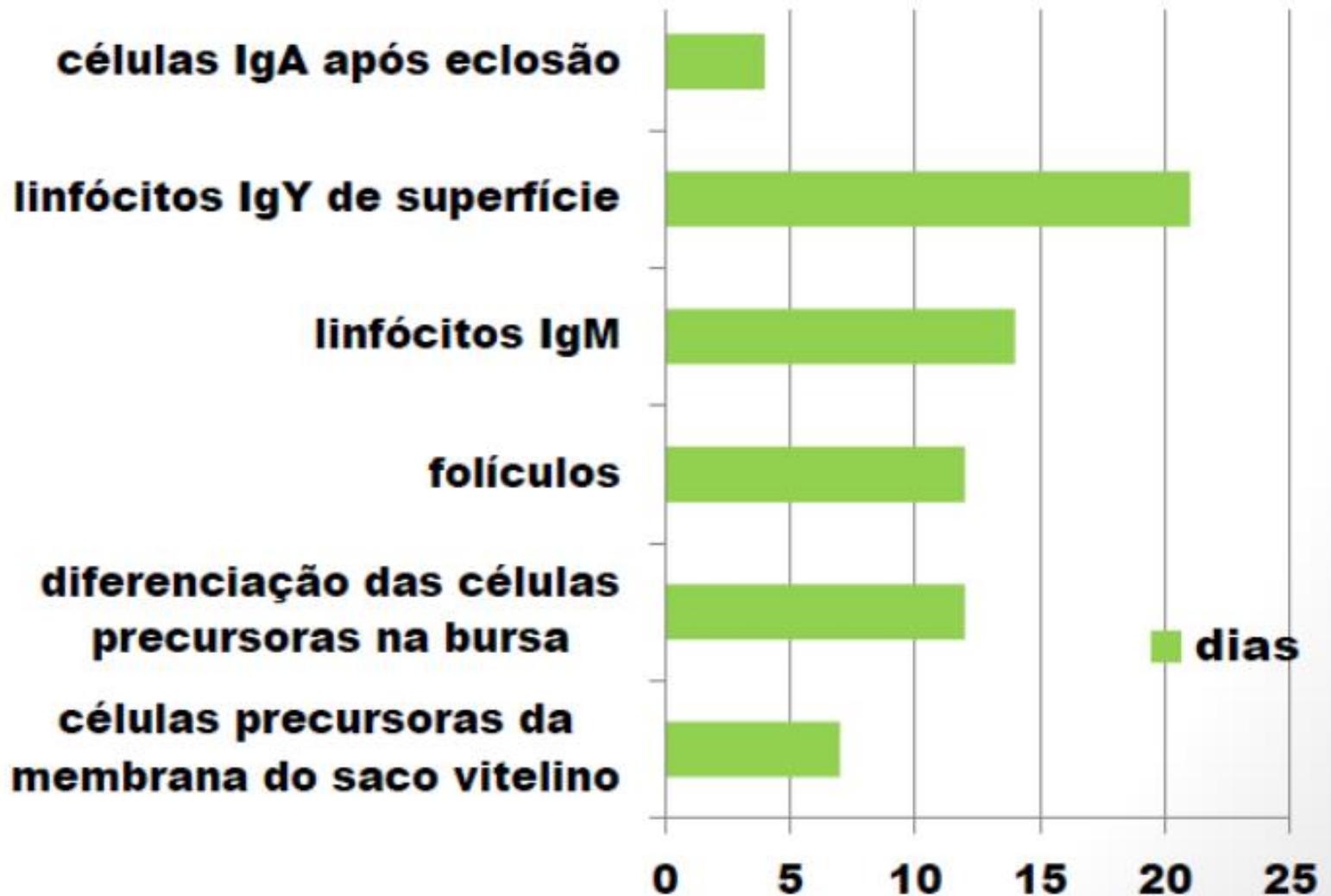
# Resposta Imune

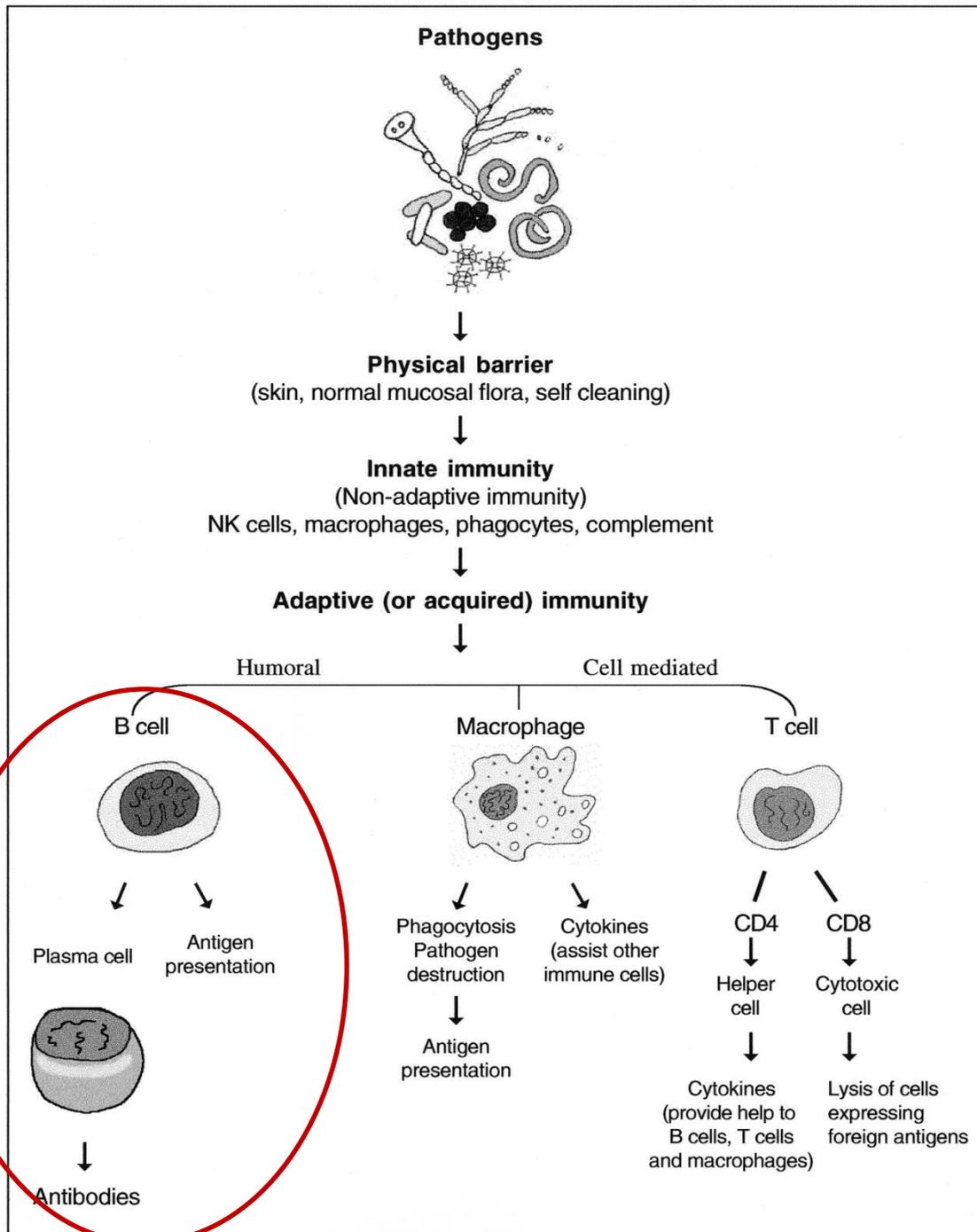
- **Imunidade inata:**
  - Primeira linha de defesa
  - **Não específica**
- **Imunidade humoral:**
  - Células B
  - Medida a partir da detecção de anticorpos específicos no soro
- **Imunidade mediada por células:**
  - Células T (Respostas Th1 e Th2)
  - Medida por testes de proliferação ( $^3\text{H}$  uptake) e produção de citocinas (IFN-g and IL-4) após um recall específico (*ex vivo*)
- **Imunidade das mucosas:**
  - Principal porta de entrada de agentes infecciosos no corpo: HALT, BALT e GALT
  - Medida a partir da detecção de anticorpos específicos em culturas de bronquios e intestino (*ex vivo*) e lágrimas

# Comparação dos sistemas imunes



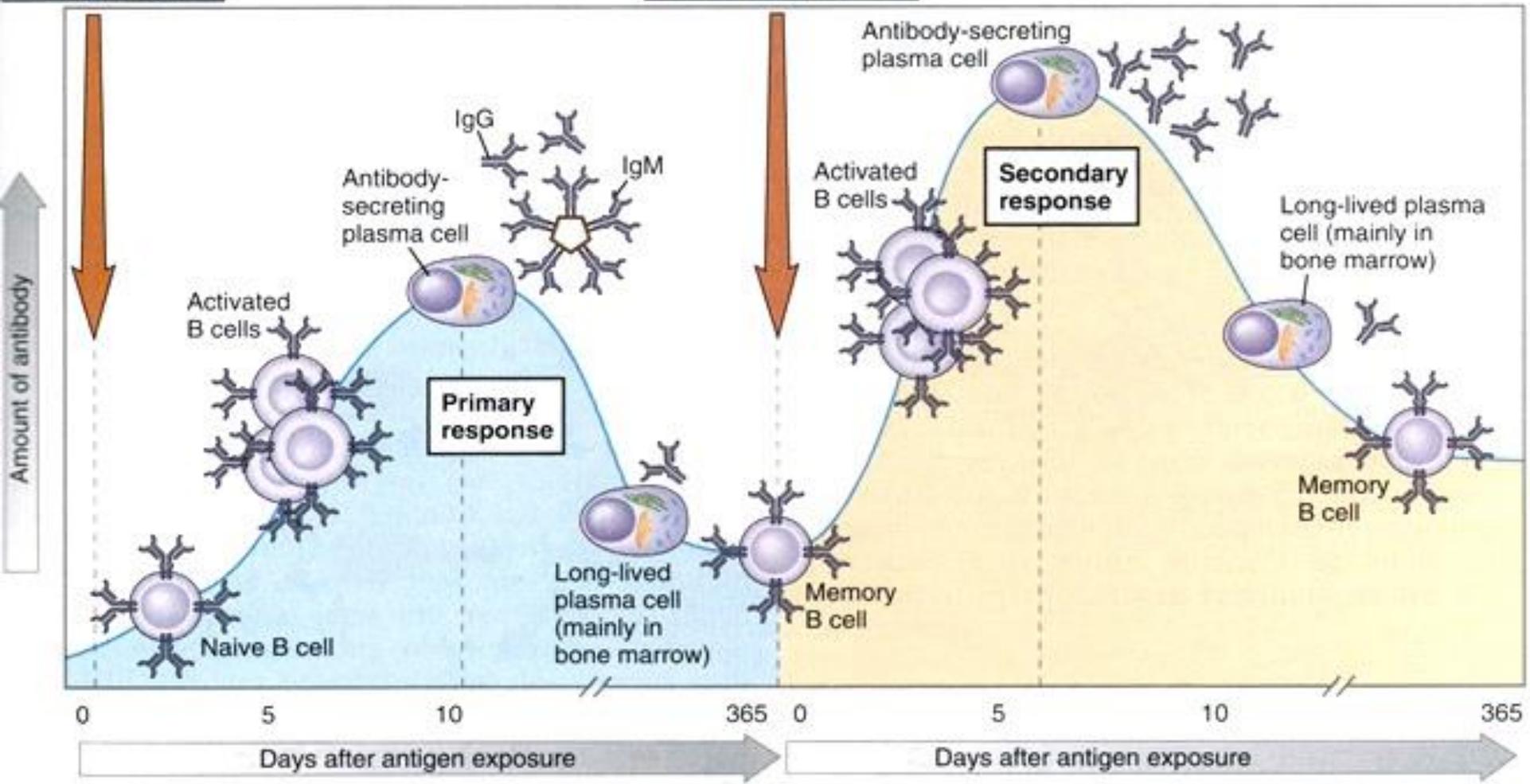
# Desenvolvimento do sistema imune

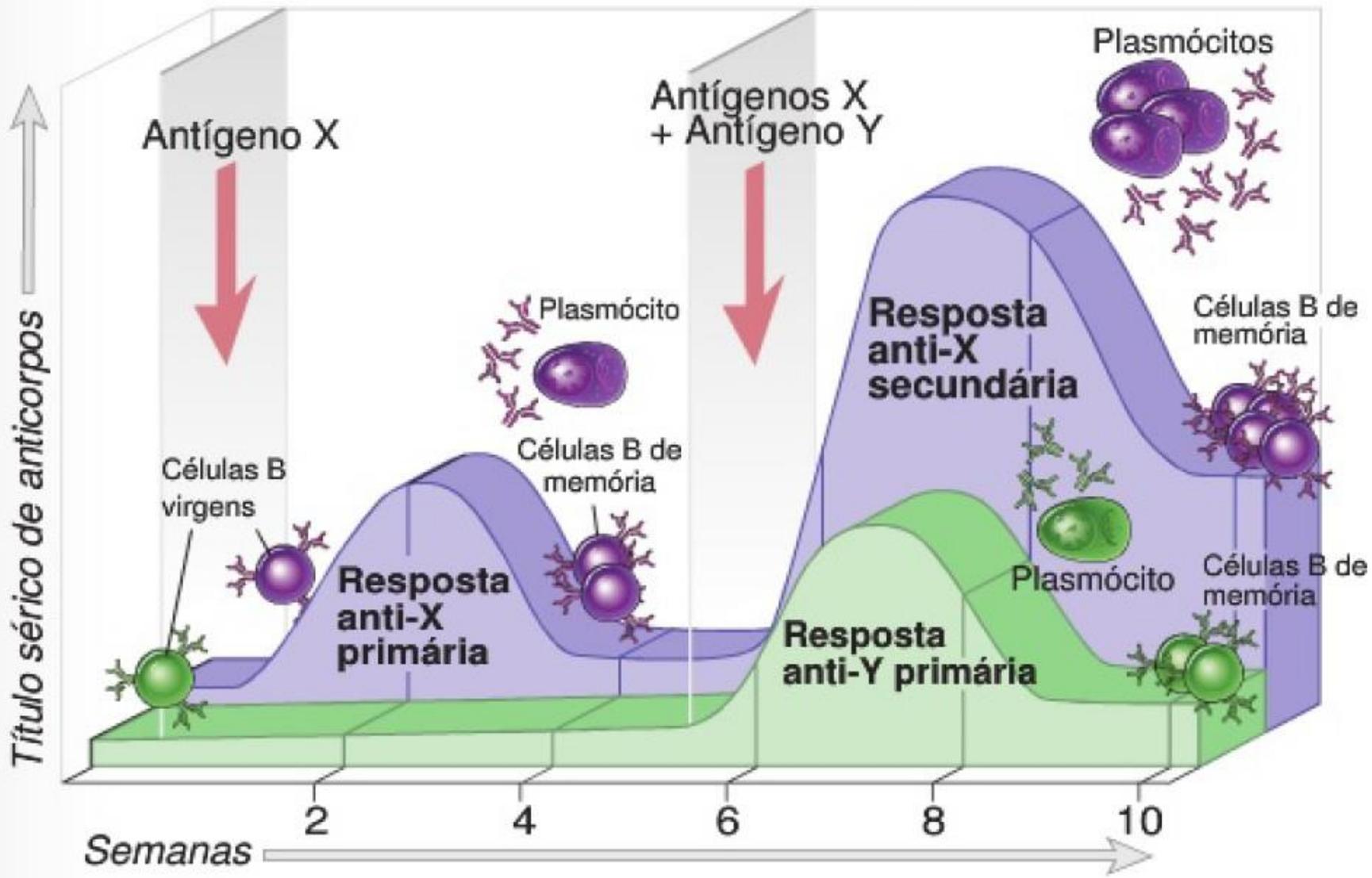
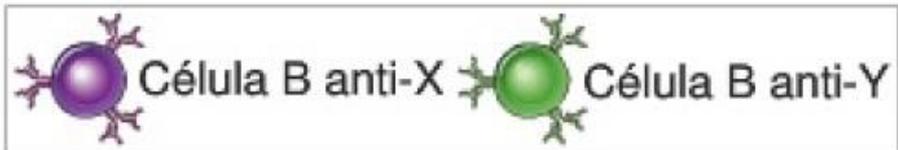




First exposure to antigen

Second exposure to antigen





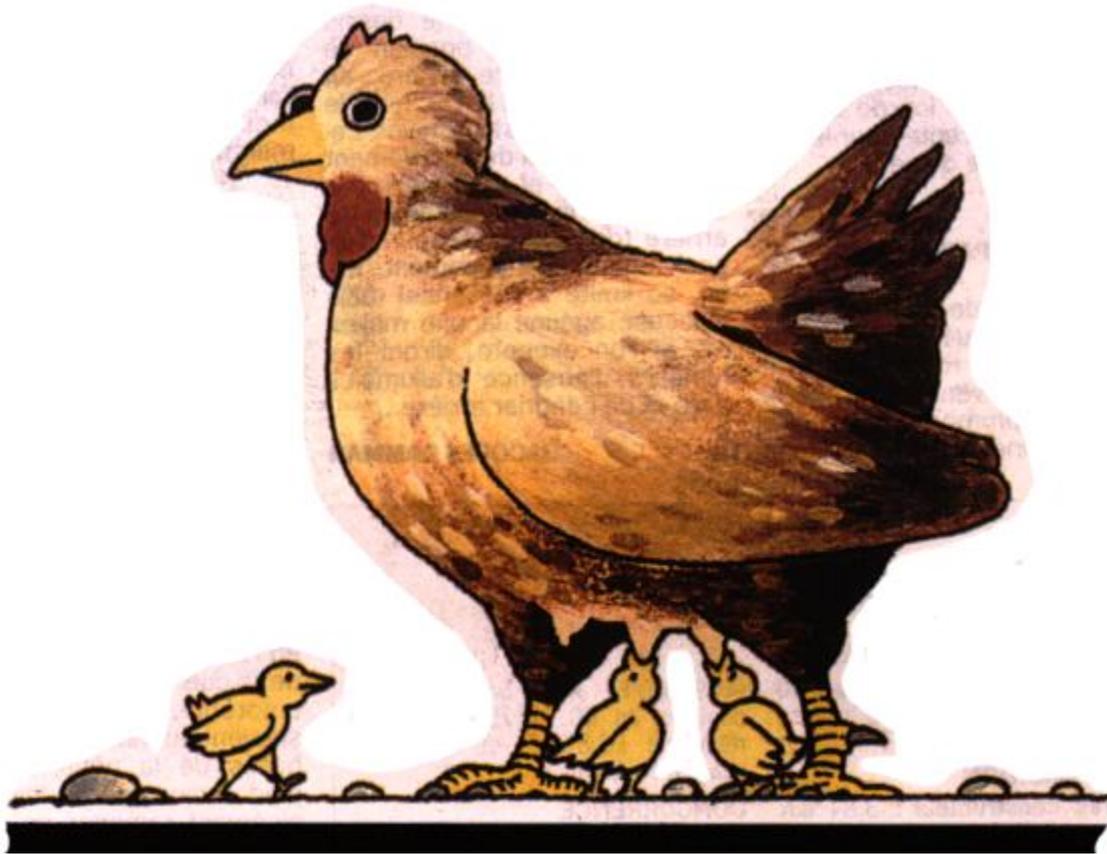
# Por que as aves produzem anticorpos?

Após o contato com o antígeno de um microrganismo há a indução de uma resposta imune primária, e geração de uma memória imunológica.

1. Ativa
2. Passiva



# Anticorpos maternos ??

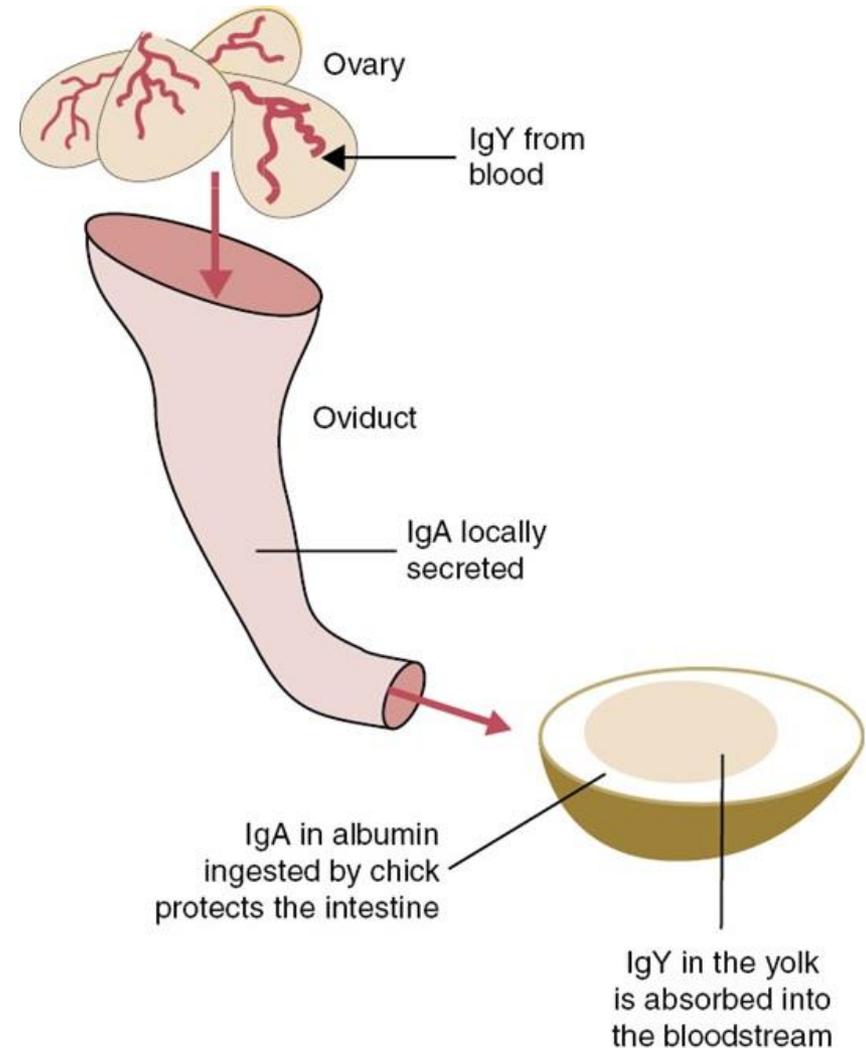


# Anticorpos maternos

Anticorpos maternos -> Ovo  
(IgY)

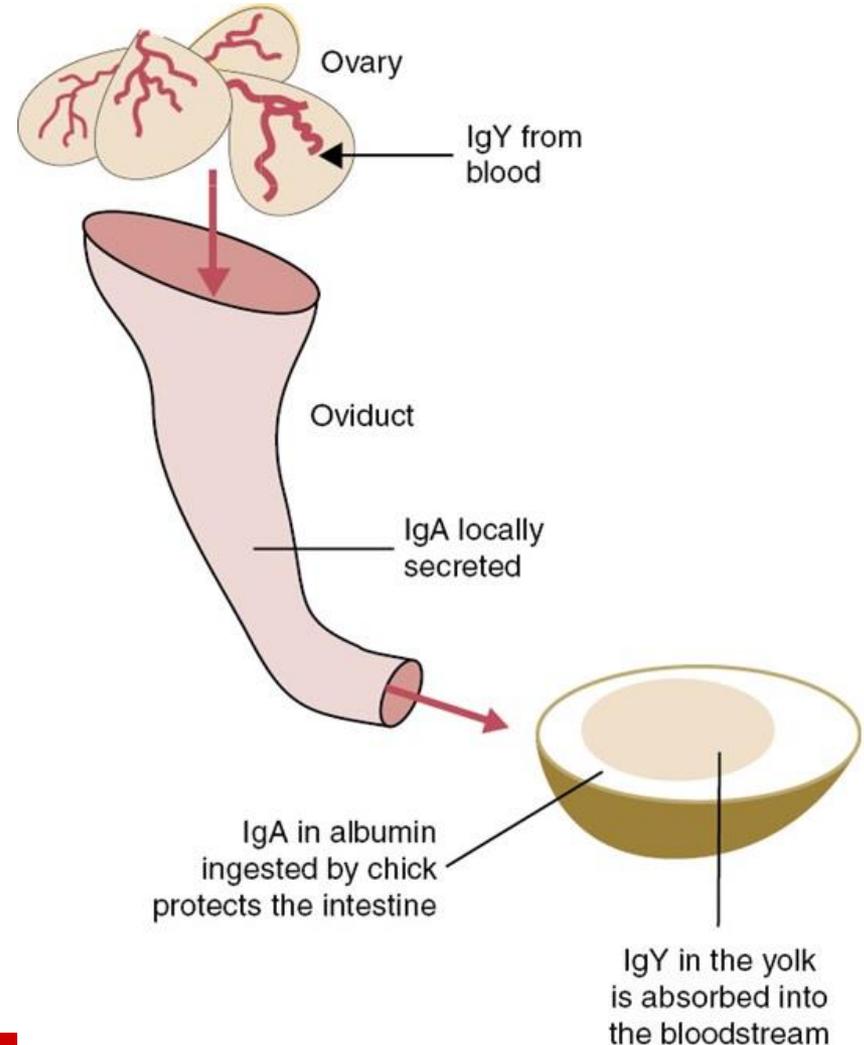
Características gerais

- Não ativa o SI
- Não gera memória
- Proteção de baixa durabilidade



# Anticorpos maternos

- Vantagem:
  - “Imunidade” pronta
- Desvantagem:
  - Vacinação em pintos de 1d
  - Interferência

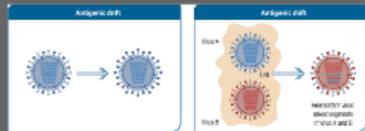


# Imunização Ativa

- Natural:
  - Infecções naturais
- Artificial:
  - Vacinas (várias formas de vacinas)

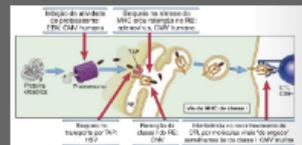
# Mecanismos de evasão dos patógenos

## Varição antigênica



Ferreira et al. AIV handbook, 2016

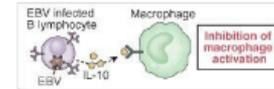
## Inibição da apresentação e processamento do antígeno



Abbas et al. Imunologia celular e molecular, 7a edição, 2012

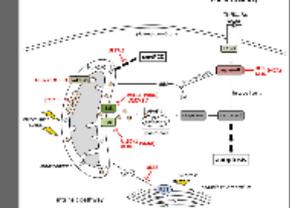
## Inibição da resposta imune

Inhibition of immune response through production of virokines and viroreceptors



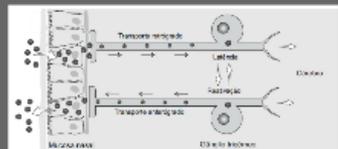
Abbas et al. Molecular and cellular Immunology 2010

## Inibição da Apoptose



Filss & Brune, Viruses 2012, 4(10), 1928-1949; doi:10.3390/v4101928

## Infecções latentes no Sistema Nervoso Central



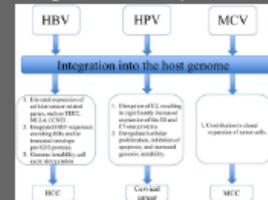
Reis, Resposta Imunológica contra vírus. In: Flores (ed). Virologia Veterinária, 2012

## Indução de tolerância



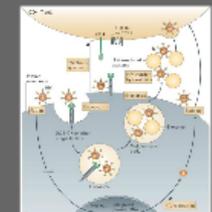
Perabali & Pillai. Nature Reviews Immunology 14, 315-328 (2014); doi:10.1038/nri3665  
Rean et al. Nature Reviews Immunology 13, 851-861 (2013); doi:10.1038/nri3551

## Integração do Material genético no genoma do hospedeiro



Chen et al. Cancers 2014, 6(4), 2155-2186; doi:10.3390/cancers6042155

## Infecção de células do sistema Imune



Wu & Ke, Nature Reviews Immunology 6, 859-868 (2006); doi:10.1038/nri1960

# AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO

- Aves vivas ou mortas
- Tecidos
- Lâminas com “impressão” ou “esfregaços”
- Suabes
- Fezes
- Ração / Água / Ovos
- Sangue / Soro

# Coleta de material

- Sangue
  - Veia Braquial



# Coleta de material

- Processamento do sangue
  - Plasma
  - Soro



# SOROLOGIA

Detecção do aumento do nível de anticorpos entre a fase aguda e convalescente da infecção.

Ou detecção de IgM na infecção primária.

- Principais testes sorológicos para a avicultura

- 1- Testes de neutralização

- 2- Técnicas de IF ou IPX

- 3- Imunoprecipitação em Ágar Gel

- 4- Inibição da hemaglutinação

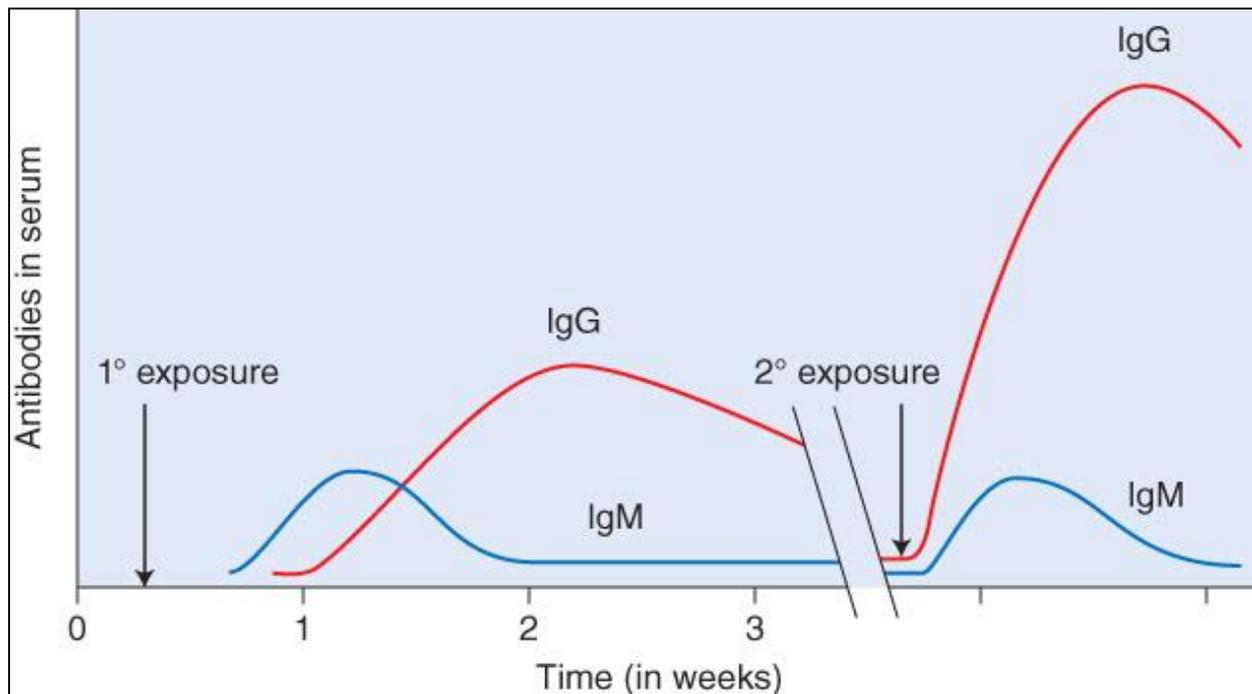
- 5- ELISA

- 6- Western Blot

- 7- Soroaglutinação

# SOROLOGIA

- Diagnóstico sorológico:
- Por que amostras de soro “pareadas” ?



# SOROLOGIA

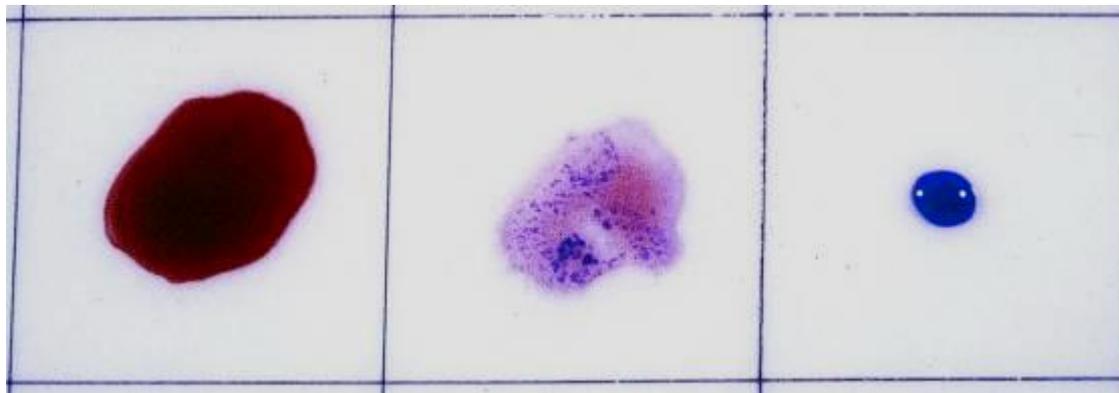
## INFECÇÃO PRIMÁRIA

- Aumento 4 x ou mais do título de anticorpos IgY entre fase aguda e convalescente
- Presença de IgM
- Soroconversão
- Altos títulos de anticorpos totais – não confiável

## REINFECÇÃO

- Aumento do título de anticorpos IgY entre fase aguda e convalescente
- Ausência ou pequeno aumento de IgM

# TESTES SOROLÓGICOS



**Hemaglutinação com sangue total**