

Vacinas vetorizadas para avicultura

Helena Lage Ferreira

Resumo

A vacinação é utilizada amplamente pela indústria avícola como forma de profilaxia de muitas doenças, especialmente aquelas causadas pelos vírus. As vacinas vivas atenuadas e inativadas são as mais utilizadas e oferecem uma proteção muito efetiva de uma maneira geral. Contudo, alguns problemas são observados com o uso destas vacinas. Nas últimas décadas novas tecnologias têm sido desenvolvidas para a produção de vacinas, como a produção de vacinas recombinantes, entre elas as vacinas vetorizadas. Vacinas com diferentes vetores expressando antígenos de uma grande variedade de patógenos já estão licenciadas em alguns países. Uma outra variedade de vacinas vetorizada têm sido testada experimentalmente. Estas vacinas oferecem uma grande potencial para o controle das doenças na avicultura. O objetivo deste artigo é promover uma visão geral sobre as vacinas vetorizadas desenvolvidas para a avicultura e não uma extensa revisão sobre a produção e imunidade induzida por estas vacinas.

Introdução

A vacinação pode ser associada ao programa de controle das doenças aviárias que deve englobar medidas como biosseguridade, educação dos trabalhadores, vigilância epidemiológica, diagnóstico rápido e abate sanitário em algumas circunstâncias. Os objetivos da vacinação e a definição da população que será vacinada precisam estar bem esclarecidos, assim como a forma de administração e quantidade de doses devem ser bem definidas para uma proteção adequada. As vacinas precisam ser selecionadas de acordo com a necessidade local, que podem ser utilizadas sob forma profilática ou emergencial para reduzir o número de casos clínicos ou para garantir a manutenção do sustento da população rural (Swayne et al., 2011). Elas devem oferecer proteção contra sinais clínicos e morte, aumentar a resistência à infecção, reduzir a excreção viral em aves infectadas provando a prevenção da transmissão direta e a diminuição da contaminação ambiental. A antigenicidade vacinal precisa ser relacionada aos patógenos circulantes e possíveis patógenos emergentes monitorados pela vigilância epidemiológica (Swayne et al., 2015).

As vacinas inativadas e vacinas vivas já conseguiram reduzir e controlar diversos surtos de doenças na avicultura. Uma das principais desvantagens das vacinas vivas ou vacinas inativadas é a necessidade de usar um grande número de diferentes preparações sobre uma larga faixa de idade para promover uma vacinação eficaz. Além disso, o uso de vacinas vivas atenuadas pode causar reações leves induzidas pela vacina ou até mesmo causar surtos da doença (Guy et al., 1991; Menendez et al., 2014). A reversão de patogenicidade por mutações ou recombinação entre cepas de campo e vacinais também pode ocorrer com estas vacinas (Montassier, 2010). Assim, a indústria investiu nas últimas décadas no desenvolvimento e na produção de novas vacinas, como as vacinas recombinantes (Tomley, 1991) entre elas as vacinas vetorizadas, vacinas subunitárias, vacinas de DNA.

Vacinas vetorizadas

As vacinas vetorizadas precisam ser mais seguras, mais eficazes ou menos caras de produzir que as tradicionais para conseguir ganhar o mercado (Jackwood, 1999). As vacinas vetorizadas oferecem novas possibilidades para o desenvolvimento de programas de controle e erradicação das doenças aviárias.

Elas consistem de um vetor (por exemplo, um vírus ou bactérias) que expressa os antígenos de outros agentes infecciosos (figura 1). O processo para o desenvolvimento de uma vacina recombinante envolve a introdução de genes que codificam para os antígenos, proteínas no genoma do vetor. Ele quando se multiplica expressa o produto do segmento inserido. Assim, a vacina recombinante induz imunidade contra o vetor e também contra o antígeno inserido no vetor sem usar o agente completo da doença real. Este antígeno inserido não é capaz de causar doença clínica, não se replica na ave e não interfere com outras vacinas.

A primeira descrição do desenvolvimento de uma vacina recombinante foi realizada com o vírus vaccinia expressando antígenos do vírus da hepatite B em células animais. Este vírus foi utilizado para a vacinação em chimpanzés, que foram protegidos após o desafio com o vírus da hepatite B (Moss et al., 1984). Hoje a lista de vacinas veterinárias licenciadas e comercializadas utilizando estas novas tecnologias (vacinas vetorizadas, vacinas subunitárias, vacinas de DNA) é muito maior que a lista de vacinas humanas (Meeusen et al., 2007).

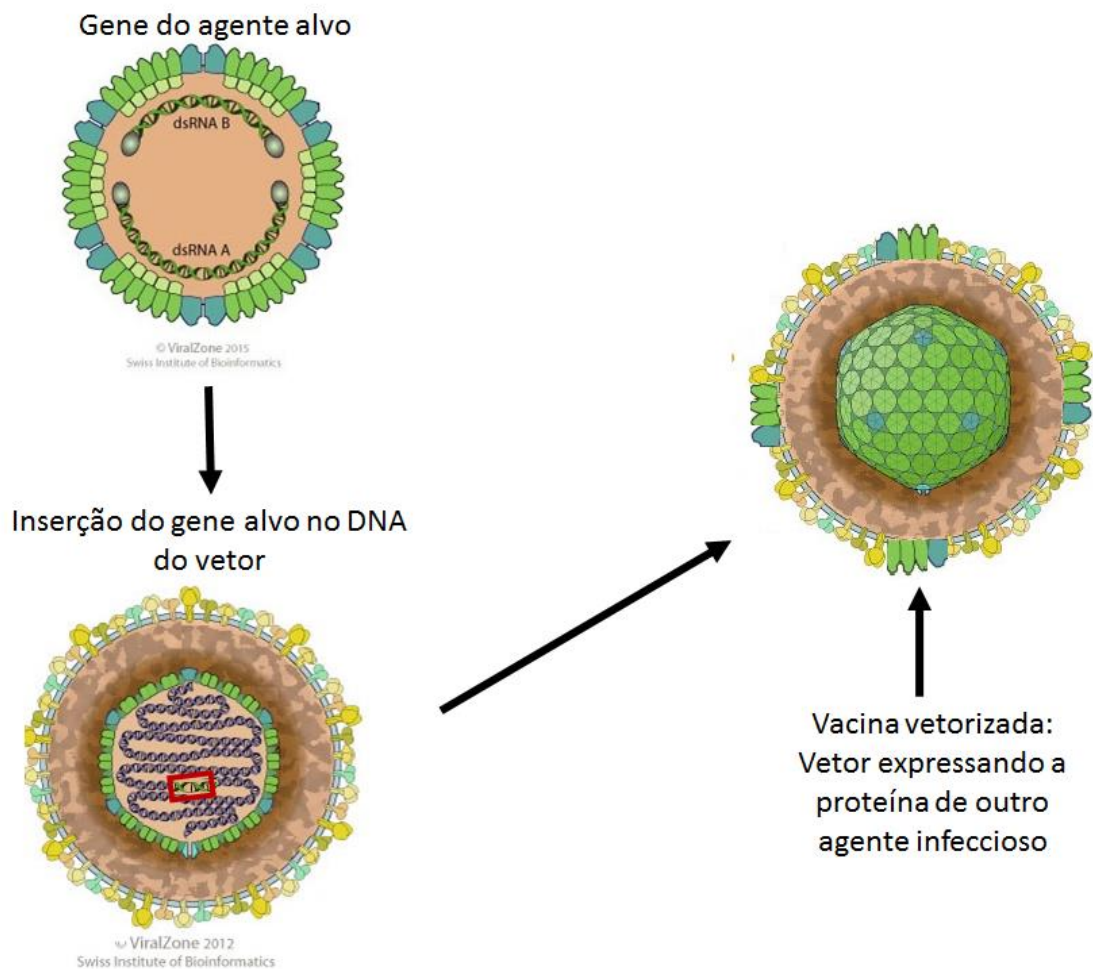


Figura 1: Princípios para produção de uma vacina vetorizada. O gene do agente infeccioso alvo importante para a proteção das aves é inserido no material genético do vetor vacinal. Este vetor consegue expressar suas proteínas e as proteínas do outro agente infeccioso.

Diversas vacinas virais vetorizadas já estão disponíveis comercialmente em vários países utilizando diferentes vetores (vírus da boubia aviária –FPV, herpesvírus de perus- HVT, vírus da doença de Newcastle-NDV) expressando genes contra outros patógenos (vírus da doença de Gumboro- IBDV, NDV, vírus da influenza aviária- AIV, vírus da laringotraqueíte infecciosa – ILTV, Mycoplasma gallisepticum – MG) (tabela 1). Outros vírus têm sido testados como vetores vacinais (vírus da peste dos patos-DEV, vírus da laringotraqueíte aviária- ILT, vírus da doença de Marek – MDV, adenovírus –AdV) para a expressão de genes contra patógenos como IBDV, AIV, bronquite infecciosa das galinhas -IBV, NDV e ILTV.

Tabela 1: Lista de vacinas vetorizadas virais comercializadas e licenciadas no mundo. Adaptado de (Armour and García, 2014; Draper and Heeney, 2010; Meeusen et al., 2007).

Vetor viral recombinante	Patógeno alvo	Antígeno (gene) inserido	Nome comercial	Distribuidor
FPV	Vírus da influenza aviária (AIV) e FPV	H5 HA do AIV	Trovac AI H5	Merial
FPV	Vírus da doença de Newcastle (NDV) e FPV	HN e F do NDV	Trovac NDV	Merial
FPV	Vírus da doença de Newcastle (NDV) e FPV	HN e F do NDV	Vectormune FP ND	Ceva Animal Health
FPV	Vírus da boubá aviária e da laringotraqueíte infecciosa	gB e UL 32 do ILTV	Vectormune-FP LT	Ceva Animal Health
FPV	MG e FPV	Genes 40k e mgc do MG	Vectormune-FP MG	Ceva Animal Health
NDV (cepa LaSota)	Vírus da influenza aviária e da doença de Newcastle	H5 HA do AIV	NewH5	Avimex
HVT	Vírus da doença de Gumboro e da doença de Marek	VP2 do IBDV	Vaxxitek HVT + IBD	Merial
HVT	Vírus da doença de Gumboro e da doença de Marek	VP2 do IBDV	Vectormune HVT IBD	Ceva Animal Health
HVT	ILTV e doença de Marek	gI e gD do ILTV	Innovax- ILT	Merk Animal Health
HVT	ILTV e vírus doença de Marek	gI e gD do ILTV	Vectormune-LT	Ceva Animal Health
HVT	AIV e vírus doença de Marek	Gene HA H5 do AIV	Vectormune-AI	Ceva Animal Health
HVT	NDV e vírus da doença de Marek	Gene F do NDV	Vectormune-ND	Ceva Animal Health
HVT	Vírus da doença de Newcastle e da doença de Marek	Gene F do NDV	Innovax ND	Merk Animal Health

Os vetores virais FPV e HVT apresentam grandes genomas. Isso permite a inserção e expressão grandes quantidades de DNA estranho ou múltiplos genes (um a dois para HVT e um pouco mais para FPV) para codificar antígenos de outros patógenos

sem que haja alteração na infectividade do vetores (Paoletti, 1996). Eles apresentam diversos sítios não essenciais podem ser utilizados para inserção e expressão de outros genes (van den Berg et al., 2008). As vacinas recombinantes com HVT e FP podem ser feitas no ovo ou por via parenteral (via subcutânea ou via punção da membrana da asa). Elas podem ser ministradas no incubatório em ovos com 18 dias de incubação ou em pintinhos de um dia ou na granja.

O vírus da boubá aviária não induz altos títulos de anticorpos, portanto múltiplos reforços podem ser feitos, mas podem induzir uma longa proteção (Bublot et al., 2006). O herpesvírus de peru é um vírus utilizado para induzir a proteção contra o vírus da doença de Marek. Este vírus apresenta uma capacidade de ser constantemente reativado, com isso há um enorme reforço da resposta imune (Tsukamoto et al., 2002).

Vetores virais utilizando vírus de RNA sentido negativo com o vírus da doença de Newcastle apresentam uma capacidade limitada para inserir o material genético a ser expresso (revisado por (Kim and Samal, 2016). A localização do gene inserido pode afetar a replicação do vetor viral. Este vetor não pode ser aplicado em ovos por causar mortalidade (Ramp et al., 2012), mas pode ser aplicado por spray no incubatório ou na granja. Este vetor apresenta um grande potencial para induzir proteção contra os agentes respiratórios como influenza aviária, laringotraqueíte infecciosa e bronquite infecciosa (IBV). Alguns estudos experimentais já foram realizados para testar o potencial do NDV como vetor para a proteção contra estas doenças (Ferreira et al., 2014; Kanabagatte Basavarajappa et al., 2014; Toro et al., 2014).

Outra grande vantagem das vacinas vetorizadas é a segurança. Os vetores virais são caracterizados pela baixa transmissão entre as aves não vacinadas, são espécie-específicas, replica pobremente nos seus hospedeiros e, principalmente, não reverte a virulência (Bublot et al., 2006). A disseminação de alguns vírus vivos utilizados na avicultura para as aves selvagens têm demonstrado aumento da variabilidade e aumento da pressão de seleção destes vírus, assim como a disseminação de contaminantes como a reticuloendoteliose (Devlin et al., 2016). As vacinas vetorizadas parece que circulam menos entre as aves silvestres, mas seu real impacto ainda precisa ser mensurado.

A vacinação pode dificultar o monitoramento sorológico nas aves domésticas. As vacinas vetorizadas apresentam uma grande vantagem por permitir a adoção de uma estratégia de vigilância. Esta estratégia é conhecida como DIVA (do inglês,

Differentiating Infected from Vaccinated Animals), que funciona para diferenciar os animais infectados dos animais vacinados (Suarez, 2005). Com isso, podem ser utilizadas técnicas de diagnóstico baseadas em proteínas diferentes daquelas inseridas no vetor, quando há suspeita da circulação da doença. Isto permite a diferenciação do vírus de campo do vírus vacinal, que é particularmente importante para as doenças de notificação obrigatória, como influenza aviária (Iqbal, 2012).

A utilização das vacinas vetorizadas também apresenta algumas desvantagens em relação às vacinas vivas. Para alguns agentes infecciosos, a eficiência da vacinação é aumentada substancialmente com a administração de duas doses vacinais, principalmente com o uso de cepas heterólogas, isto é, vacinas com cepas que induzem a imunidade de forma distinta, que aumenta o espectro de proteção (Ferreira et al., 2014). A imunidade induzida pelas vacinas vetorizadas pode apresentar uma certa demora quando comparada com aquela induzida pelas vacinas vivas (Palya et al., 2012). Os anticorpos maternos de ambos vetores podem interferir na replicação viral, portanto na proteção promovida pelo vetor (Ferreira et al., 2012; Hein, 2011; van den Berg et al., 2008). Os anticorpos maternos contra o inserto parecem ter também um impacto na imunidade induzida pelo vetor (Iritani et al., 1991; Lardinois et al., 2016), mas em alguns casos parece não interferir (Goutebroze et al., 2003).

As vacinas vetorizadas têm ganhado o mercado nos últimos anos, mas apresentam ainda algumas limitações. A indústria continua investindo para que exista um equilíbrio em alta proteção, custo baixo e redução de excreção. Novas tecnologias como vacinas deletérias ou vacinas vetorizadas expressando alguns genes de citocinas parecem ser promissores.

Conflito de interesses: A citação dos produtos específicos ou fabricantes não implica na garantia dos produtos ou fabricantes mencionados.

Referências

- Armour, N.K., García, M., 2014. Current and Future Applications of Viral-Vectored Recombinant Vaccines in Poultry The Poultry informed professional July-August, 1-9.
- Bublot, M., Pritchard, N., Swayne, D.E., Selleck, P., Karaca, K., Suarez, D.L., Audonnet, J.C., Mickle, T.R., 2006. Development and use of fowlpox vectored vaccines for avian influenza. *Ann N Y Acad Sci* 1081, 193-201.
- Devlin, J.M., Vaz, P.K., Coppo, M.J., Browning, G.F., 2016. Impacts of poultry vaccination on viruses of wild bird. *Curr Opin Virol* 19, 23-29.

Draper, S.J., Heeney, J.L., 2010. Viruses as vaccine vectors for infectious diseases and cancer. *Nat Rev Microbiol* 8, 62-73.

Ferreira, H.L., Pirlot, J.F., Reynard, F., van den Berg, T., Bublot, M., Lambrecht, B., 2012. Immune responses and protection against H5N1 highly pathogenic avian influenza virus induced by the Newcastle disease virus H5 vaccine in ducks. *Avian Diseases* 56, 940-948.

Ferreira, H.L., Rauw, F., Pirlot, J.F., Reynard, F., van den Berg, T., Bublot, M., Lambrecht, B., 2014. Comparison of single 1-day-old chick vaccination using a Newcastle disease virus vector with a prime/boost vaccination scheme against a highly pathogenic avian influenza H5N1 challenge. *Avian Pathology* 43, 68-77.

Goutebroze, S., Curet, M., Jay, M.L., Roux, C., Le Gros, F., 2003. Efficacy of a recombinant vaccine HVT-VP2 against Gumboro disease in the presence of maternal antibodies. *Br Poult Sci* 44, 824-825.

Guy, J.S., Barnes, H.J., Smith, L., 1991. Increased virulence of modified-live infectious laryngotracheitis vaccine virus following bird-to-bird passage. *Avian Dis* 35, 348-355.

Hein, R.G., 2011. Issues of the poultry recombinant viral vector vaccines which may cause a negative effect on the economic benefits of those vaccines. In: XVII International Congress of the World Veterinary Poultry Association, Cancun, Mexico, pp. 186- 187.

Iqbal, M., 2012. Progress toward the development of polyvalent vaccination strategies against multiple viral infections in chickens using herpesvirus of turkeys as vector. *Bioengineered* 3, 222-226.

Iritani, Y., Aoyama, S., Takigami, S., Hayashi, Y., Ogawa, R., Yanagida, N., Saeki, S., Kamogawa, K., 1991. Antibody-Response to Newcastle-Disease Virus (Ndv) of Recombinant Folpox Virus (Fpv) Expressing a Hemagglutinin-Neuraminidase of Ndv into Chickens in the Presence of Antibody to Ndv or Fpv. *Avian Diseases* 35, 659-661.

Jackwood, M.W., 1999. Current and future recombinant viral vaccines for poultry. *Adv Vet Med* 41, 517-522.

Kanabagatte Basavarajappa, M., Kumar, S., Khattar, S.K., Gebreluul, G.T., Paldurai, A., Samal, S.K., 2014. A recombinant Newcastle disease virus (NDV) expressing infectious laryngotracheitis virus (ILTV) surface glycoprotein D protects against highly virulent ILTV and NDV challenges in chickens. *Vaccine* 32, 3555-3563.

Kim, S.H., Samal, S.K., 2016. Newcastle Disease Virus as a Vaccine Vector for Development of Human and Veterinary Vaccines. *Viruses* 8, 183.

Lardinois, A., Vandersleyen, O., Steensels, M., Desloges, N., Mast, J., van den Berg, T., Lambrecht, B., 2016. Stronger Interference of Avian Influenza Virus-Specific Than Newcastle Disease Virus-Specific Maternally Derived Antibodies with a Recombinant NDV-H5 Vaccine. *Avian Diseases* 60, 191-201.

Meeusen, E.N., Walker, J., Peters, A., Pastoret, P.P., Jungersen, G., 2007. Current status of veterinary vaccines. *Clin Microbiol Rev* 20, 489-510, table of contents.

Menendez, K.R., Garcia, M., Spatz, S., Tablante, N.L., 2014. Molecular epidemiology of infectious laryngotracheitis: a review. *Avian Pathology* 43, 108-117.

Montassier, H.J., 2010. Molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus. *Brazilian Journal of Poultry Science* 12, 87-96.

Moss, B., Smith, G.L., Gerin, J.L., Purcell, R.H., 1984. Live recombinant vaccinia virus protects chimpanzees against hepatitis B. *Nature* 311, 67-69.

Palya, V., Kiss, I., Tatar-Kis, T., Mato, T., Felfoldi, B., Gardin, Y., 2012. Advancement in vaccination against Newcastle disease: recombinant HVT NDV provides high clinical protection and reduces challenge virus shedding with the absence of vaccine reactions. *Avian Dis* 56, 282-287.

Paoletti, E., 1996. Applications of pox virus vectors to vaccination: an update. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 11349-11353.

Ramp, K., Topfstedt, E., Wackerlin, R., Hoper, D., Ziller, M., Mettenleiter, T.C., Grund, C., Romer-Oberdorfer, A., 2012. Pathogenicity and immunogenicity of different recombinant Newcastle disease virus clone 30 variants after in ovo vaccination. *Avian Dis* 56, 208-217.

Suarez, D.L., 2005. Overview of avian influenza DIVA test strategies. *Biologicals* 33, 221-226.

Swayne, D.E., Pavade, G., Hamilton, K., Vallat, B., Miyagishima, K., 2011. Assessment of national strategies for control of high-pathogenicity avian influenza and low-pathogenicity notifiable avian influenza in poultry, with emphasis on vaccines and vaccination. *Rev Sci Tech* 30, 839-870.

Swayne, D.E., Suarez, D.L., Spackman, E., Jadhao, S., Dauphin, G., Kim-Torchetti, M., McGrane, J., Weaver, J., Daniels, P., Wong, F., Selleck, P., Wiyono, A., Indriani, R., Yupiana, Y., Siregar, E.S., Prajitno, T., Smith, D., Fouchier, R., 2015. Antibody Titer Has Positive Predictive Value for Vaccine Protection against Challenge with Natural Antigenic-Drift Variants of H5N1 High-Pathogenicity Avian Influenza Viruses from Indonesia. *Journal of Virology* 89, 3746-3762.

Tomley, F., 1991. Recombinant vaccines for poultry. *Vaccine* 9, 4-5.

Toro, H., Zhao, W., Breedlove, C., Zhang, Z., Yub, Q., 2014. Infectious bronchitis virus S2 expressed from recombinant virus confers broad protection against challenge. *Avian Dis* 58, 83-89.

Tsukamoto, K., Saito, S., Saeki, S., Sato, T., Tanimura, N., Isobe, T., Mase, M., Imada, T., Yuasa, N., Yamaguchi, S., 2002. Complete, long-lasting protection against lethal infectious bursal disease virus challenge by a single vaccination with an avian herpesvirus vector expressing VP2 antigens. *J Virol* 76, 5637-5645.

van den Berg, T., Lambrecht, B., Marche, S., Steensels, M., Van Borm, S., Bublot, M., 2008. Influenza vaccines and vaccination strategies in birds. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 31, 121-165.