



Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

**Avaliação no desempenho de frangos de corte submetidos a três diferentes
programas de vacinações para Doença Infecciosa da Bursa**

Dissertação de Mestrado

Ricardo dos Santos

Porto Alegre, 2009

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

Avaliação no desempenho de frangos de corte submetidos a três diferentes programas de vacinações para Doença Infecciosa da Bursa

Autor: Ricardo dos Santos, médico veterinário.
Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Sanidade Avícola.
Orientador: Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento

PORTO ALEGRE
2009

Ricardo dos Santos

Avaliação no desempenho de frangos de corte submetidos a três diferentes programas de vacinações para Doença Infecciosa da Bursa.

Aprovada em 25/03/09.

APROVADO POR:

Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Adriano da Silva Guahyba

Membro da Comissão

Prof. Dr. Hamilton Luiz de Souza Moraes

Membro da Comissão

Prof. Dr. Luiz César Bello Fallavena

Membro da Comissão

DEDICATÓRIA

Aos meus pais pelo exemplo de caráter, dignidade, honestidade, simplicidade e por todo amor que sempre me deram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder muita força e determinação de conquistar mais um objetivo de minha vida. Ter colocado no meu caminho pessoas que foram grandes amigos e incentivadores nesse momento tão importante de minha carreira profissional.

Aos meus pais, maiores incentivadores da minha educação e aprendizado profissional.

A minha namorada Fabiane Marson, que sempre foi à estrutura e alicerce durante a condução deste trabalho, obrigado pelo apoio, força e constantes conselhos.

Ao Grupo Avipal S.A., empresa que incentivou e acreditou no meu trabalho.

Ao Prof. Vladimir Pinheiro do Nascimento, pela orientação, confiança, paciência e principalmente o grande responsável pela oportunidade que foi concedida a mim.

Ao Prof. Carlos Tadeu Pippi Salle, pela amizade, entusiasmo, incentivo e apoio, fatores determinantes no desenvolvimento deste trabalho.

Em especial ao grande incentivador e amigo Iesser Duarte Salah que acreditou e também confiou em meu potencial, abrindo essa oportunidade para meu aperfeiçoamento profissional.

Ao Hirã G. de Azevedo, que soube sempre compreender as dificuldades e foi um impulsionador durante o período de mestrado. Agradeço muito pelo apoio e incentivo.

A colega do fomento, Silvana Franco que auxiliou em todas as atividades que envolveram o experimento desde o início até a conclusão. Também aos estagiários, Felipe, Ângelo, William, Juliana e Fernanda que muito se empenharam para o bom andamento do Projeto.

A todos os colegas de trabalho do fomento de frango de corte, Marcelo, Carolina, Gladis, Gláucia, Diego, Diovani, Sandra, Raquel, Eleandro, Iali, Èder, André Lima e Izabel, que ajudaram na execução deste trabalho.

Aos colegas Guilherme Fonseca de Souza, Lucas Brunelli de Moraes e Francielli Cordeiro Zimmermann pelo companheirismo, incentivo e pela amizade.

Ao Prof. Hamilton de Souza Moraes, pelo seu ensinamento e auxílio.

A todas as outras pessoas, que não foram menos importantes e que de alguma forma colaboraram para a concretização desse trabalho.

RESUMO

A Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício (DIB), conhecida por causar imunodepressão e ser extremamente contagiosa, tem ao longo dos anos na avicultura industrial, determinado consideráveis prejuízos econômicos. Com o crescimento em larga escala da avicultura tem se intensificado a busca pelo melhor programa vacinal, conciliando a proteção adequada ao plantel com o melhor desempenho dos índices de produção. O presente experimento foi conduzido em produtores integrados de frango de corte de uma Empresa do Vale do Taquari, RS - Brasil. O experimento foi realizado em duas etapas, no período de agosto a novembro de 2007 (teste 1) e novembro de 2007 a agosto 2008 (teste 2). O ensaio consistiu na avaliação de três diferentes programas vacinais para DIB usados em cada unidade de produção, sendo uma amostra de vacina convencional contendo uma cepa forte Winterfield 2512 (A), uma vacina complexo antígeno – anticorpo (B) e uma vacina recombinante com o gene VP2 do Vírus da doença infecciosa da bolsa de Fabrício (VDIB) inserido em um herpesvírus (C). Os parâmetros de produção de peso, mortalidade e ganho de peso diário não apresentaram diferença estatística em ambos os testes. Já para a conversão alimentar e Índice de eficiência produtivo a vacina C demonstrou ser mais eficiente estatisticamente em relação às vacinas A e B, somente no teste 1. Os pesos corporais verificados semanalmente aos 07, 14, 21 e 28 dias de idade não apresentaram diferença estatística entre si e nem com os controles não vacinados (NV). Foi observado que os títulos geométricos médios (GMT) dos grupos vacinados e do grupo controle não vacinados (GMT NV) não apresentam diferença significativa nas médias entre as vacinas A, B e C, embora este último apresentasse o menor título. Quando foi comparado o perfil sorológico de aves controles também não foi possível demonstrar nenhuma diferença estatística. A vacina C em avaliação de custo/benefício representou para essa integração avícola um ganho de 1,93 %, quando comparado com a vacina A e um ganho de 2,10 % quando comparada com a vacina B. Os resultados sugerem que a vacina C foi mais eficiente, provando ser uma vacina com menor agressão ao sistema imunológico das aves, pois além dos resultados de desempenho favoráveis também apresentou a resposta sorológica (GMT) inferior e sem nenhuma doença clínica aparente em nenhum dos lotes estudados. As vacinas A e B, embora tenham apresentado proteção maior pelo fato de apresentarem GMT mais altos, retardaram o crescimento das aves em função de serem

cepas mais agressivas, portanto determinou um desempenho zootécnico inferior. Baseado nisto, a escolha de um programa de vacinação deve, principalmente, levar em conta as circunstâncias de risco vividas pelo plantel, representadas pela presença de enfermidades concorrentes e a realização de monitorizações cujos critérios de avaliação sejam claros e precisos.

Palavras-Chave: anticorpo, antígeno, bursa, doença, gumboro, recombinante, vacina, vírus.

ABSTRACT

Infectious bursal disease (IBD), known to cause immunodepression and to be highly contagious, has caused considerable economic damage to industrial aviculture over the years. With the wide-scale growth in aviculture the search for the best vaccine program has been intensified, combining the proper protection of the batch with the best production performance indexes. The study here reported was carried out on integrated producers of broilers from company in the Vale do Taquari, RS – Brazil. The experiment was evaluated in two stages in the periods of August to November 2007 (test 1) and November 2007 to August 2008 (test 2). The test consisted on the evaluation of three different vaccine programs for the IBD used in each production unit, with a conventional vaccine sample containing a hot strain Winterfield 2512 (A), an antigen-antibody complex vaccine (B) and a recombinant vaccine with the VP2 gene of Infectious Bursal Disease Virus inserted into a herpes virus (C). The parameters of weight production, mortality and daily weight gain did not show statistical differences in both tests. For the feeding conversion and production efficiency index, vaccine C was shown to be statistically more efficient in relation to the vaccines A and B, only in the case of test 1. The body weights measured weekly at 07, 14, 21 and 28 days old did not show a statistical difference between them or in comparison to the non vaccinated controls (NV). It was observed that the geometric mean titer (GMT) of the vaccinated groups and non vaccinated control group (GMT NV) did not show a significant difference between the averages for vaccines A, B and C, although the latter showed the lowest titer. When the serological profiles of the control birds were compared, it was also not possible to identify any statistical difference. The evaluation of the cost/benefit ratio of vaccine C showed for this aviculture integration a gain of 1.93 % when compared with vaccine A, and a gain of 2.10% when compared with vaccine B. The results indicate that vaccine C was the most efficient, verifying it to be a vaccine with lower aggression toward the immunological system of the birds since, besides the favorable performance results, it also showed a lower serological response (GMT) and none of the flocks studied showed any apparent clinical disease. Although vaccines A and B showed greater protection through their higher GMT values, they retarded the growth of the birds since they are more aggressive strains, thus resulting in a lower zootechnical performance. On this basis, the choice of a vaccination program must,

mainly, consider the risk circumstances associated with the flock represented by the presence of concurring diseases, the carrying out of monitoring with clear and concise evaluation criteria.

Key words: antibody, antígen, bursal, disease, gumboro, recombinant, vaccine, vírus.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Teste 1: Avaliação de Peso corporal (PC), e Conversão Alimentar (CA), Índice de Eficiência Produtivo (IEP), Ganho de Peso Diário (GPD) e Mortalidade (Mort) para as diferentes vacinas utilizadas no teste 1.....	28
TABELA 2. Teste 2: Avaliação de Peso corporal (PC), Conversão Alimentar (CA), Índice de Eficiência Produtivo (IEP), Ganho de Peso Diário (GPD) e Mortalidade (Mort) para as diferentes vacinas utilizadas no teste 2.....	29
TABELA 3. Teste 2: Avaliação de Peso corporal aos 07, 14, 21 e 28 dias de idade dos três tratamentos vacinados (V) e do grupo controle não vacinado (NV) para cada tratamento.....	30
TABELA 4. Teste 2: Avaliação dos Títulos Geométricos Médios dos grupos vacinados (GMT V) A, B e C e também do grupo controle de não vacinados (GMT NV) em cada tipo de vacina	30
Tabela 5 – Simulação de custo x benefício de uso das vacinas A, B e C na integração avícola.....	31

LISTA DE SÍMBOLOS

DIB	Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício
VDIB	Vírus da Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício
NV	não vacinado
GMT	Média dos Títulos Geométricos
GMT V	Média dos Títulos Geométricos Vacinados
GMT NV	Média dos Títulos Geométricos Não Vacinados
PC	Peso corporal
CA	Conversão alimentar
IEP	Índice de Eficiência Produtivo
GPD	Ganho de peso diário
Mort	Mortalidade
V	Vacinados
ABEF	Associação Brasileira dos Exportadores de Frango
SPF	Specific Pathogen Free
CDPA	Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária
N	número de amostras
AC	Anticorpos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 Delineamento experimental.....	23
3.2 Vacinas.....	23
3.3 Vacinação.....	23
3.4 Local e período de execução.....	24
3.5 Manejo das Aves.....	24
3.6 Plano de amostragem.....	25
3.6.1 Coleta de dados de desempenho.....	26
3.6.2 Coleta de pesos na unidade de avaliação.....	26
3.6.3 Coleta de sangue total.....	26
3.7 Elisa.....	27
3.8 Análise estatística.....	27
4 RESULTADOS.....	28
4.1. Experimento I – Avaliação do Desempenho das Aves no período de Agosto 2007 a Novembro de 2007.....	28
4.2. Experimento II – Avaliação do Desempenho das Aves no período de Novembro 2007 a Agosto de 2008.....	29
4.3. Resultados dos Títulos Geométricos Médios determinados por ELISA.....	30
4.4. Resultado Econômico.....	31
5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	33
6 CONCLUSÕES.....	39
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A expansão demográfica na maioria dos países do globo terrestre tem proporcionado uma necessidade de aumento contínuo na produção de alimentos. E a indústria avícola, por produzir um dos alimentos de fonte protéica de mais baixo custo, tem se definido como um dos segmentos que mais cresce no mundo em relação à produção de proteína animal.

A indústria avícola brasileira teve um crescimento expressivo, sendo hoje mundialmente reconhecida como uma grande fornecedora, pois tem sido hábil em suprir o mercado brasileiro e mundial com produtos de alta qualidade. Isso se deve ao fato de ser um dos setores mais permeáveis a absorção de novas tecnologias, o que aliado ao trabalho árduo dos avicultores, contribuiu para levar o Brasil à importante posição que ocupa hoje no cenário internacional.

Em 2006, a avicultura brasileira enfrentou um grande desafio devido à retração de grandes mercados consumidores da Europa e da Ásia, onde foram registrados focos de gripe aviária. Esses fatores determinaram um ajuste imediato da produção apresentando uma queda de 4,7% nas exportações em relação 2005, entretanto, o Brasil embarcou 2,713 milhões de toneladas de frango mantendo-se na primeira colocação como maior exportador, posição ocupada desde 2004 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGO, 2007).

O país tem sido competente em manter o “status” sanitário do plantel, hoje sabidamente muito utilizado como barreira protecionista não tarifária por países importadores, conquistando dessa forma importância no cenário internacional por atender as exigências de qualidade no mercado mundial de carne de frango. Diante dessa importância econômica e social da carne de frango para o Agronegócio nacional, é de extrema importância a busca contínua na maximização do potencial genético das aves. Desempenho este garantido pelo correto manejo desenvolvido pelos criadores, genéticas de alto desempenho e pela manutenção da saúde das aves, através de programas de vacinas de proteção imunológica das aves às doenças das mais variadas origens.

Nesse contexto, destacam-se as doenças virais, como as doenças imunossupressoras, as quais têm desencadeado, ao longo do tempo, grandes perdas econômicas à indústria avícola por reduzir a resistência das aves e causar agravos

secundários, desenvolvendo outras enfermidades e resultando em altas mortalidades e perda de desempenho do lote.

Em função da repercussão econômica causada pelas doenças imunossupressoras, entre elas a doença de Gumboro, torna-se necessária a monitoria contínua das granjas e avaliar os diferentes programas vacinais em busca da melhor alternativa capaz de assegurar a sanidade do plantel.

Assim sendo, esse projeto buscou comparar e pesquisar três diferentes programas vacinais contra a doença de Gumboro e avaliar o efeito de cada vacina sobre o desempenho produtivo e sanitário das aves.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O vírus da doença infecciosa da bursa (VDIB) causa uma doença imunodepressora altamente contagiosa em galinhas, resultando em consideráveis perdas econômicas (SAPATS et al., 2006). Esta doença foi observada pela 1^o vez em 1957 no distrito de Gumboro em Delaware, USA. As aves que sobreviviam à doença eram permanentemente imunodeprimidas, tornando-se mais susceptíveis a outros agentes, incluindo os bacterianos e os virais causadores de doença, além de não responderem adequadamente às vacinações (MALIK et al., 2006). Normalmente, as infecções por vírus altamente virulentos da doença infecciosa da bolsa de Fabrício (DIB) em aves de 3-6 semanas de idade causam altas mortalidades, inflamação da bursa de Fabrício, hemorragia nos músculos esqueléticos e são seguidas por imunodepressão em aves sobreviventes (NAGARAJAN & KIBENGE, 1995; LUKERT & SAIF, 2003).

O vírus de Gumboro é um membro da família *Birnaviridae*, o qual possui uma estrutura de RNA em dupla cadeia, A e B. As proteínas estruturais do VDIB são identificadas como VP1, VP2, VP3, VP4, VP5, sendo que as proteínas maiores são a VP2 e a VP3. Sabe-se que a VP2 é a responsável pela resposta imune capaz de induzir proteção, pois esse é o maior componente antigênico que codifica pelo menos dois epítomos levando a indução de proteção por anticorpos neutralizadores (FAHEY et al., 1989; BRANDT et al., 2001; LI et al., 2006). As variantes ou cepas são determinadas por mutações que afetam os aminoácidos principalmente da proteína VP2, havendo substituição de aminoácidos em determinadas posições de genes da cadeia da proteína. Como consequência, as mutações sobre a cadeia da proteína VP2 podem superar altos níveis de anticorpos maternos induzidos por vacinas protetoras sobre cepas clássicas de VDIB previamente em circulação (van den BERG & MEULEMANS, 1991).

Amostras clássicas de VDIB isoladas nos EUA nos primórdios de 1960, tais como as de Edgar 2512 e as de Irwin Moulthrop que induzem lesões hemorrágicas acompanhadas por depleção total das células B dos folículos, que determinam mortalidades entre 30 e 60% em aves jovens (BRANDT et al., 2001). Essas características se devem ao fato do vírus infectar de forma aguda e ter predileção pelas células precursoras das células B produtores dos anticorpos na bursa de Fabrício e também os macrófagos, determinando severa imunodepressão e mortalidade em aves jovens (BÖTTCHER et al., 1997; SHARMA et al., 2000; KHATRI et al., 2005). O vírus penetra nas células linfóides e macrófagos no intestino, e estas células transportam

o mesmo para a bursa, onde ocorrerá a replicação (MULLER et al., 1979).

O VDIB é um patógeno bem caracterizado, o qual pode induzir destruição bursal durante a fase aguda (KIBENGE et al., 1988). A severidade das lesões na bursa pode ser variável, de transitória a irreversível, dependendo da patogenicidade das cepas do vírus. De acordo com Edwards et al (1982) e Iván et al (2001), que relatam casos de destruição reversível com regeneração histológica da bursa de Fabrícus, que está correlacionada diretamente com a duração da imunodepressão e restauração da resposta da imunidade humoral. Segundo Ivan et al (2001), foi possível balizar a recuperação da estrutura histológica bursal, usando uma vacina VDIB e investigar a integridade funcional daqueles linfócitos B, que colonizaram a bursa de Fabrícus passada a regeneração. Entretanto, não há evidências descritas confirmando o retorno funcional das atividades das células B após a regeneração histológica.

Certamente, o maior problema da doença de Gumboro está no controle de cepas altamente virulentas de VDIB, que causam severa destruição da bursa e uma maior taxa de mortalidade, e são capazes de superar altos níveis de anticorpos maternos induzidos por vacinas protetoras usados no controle de cepas clássicas de VDIB (van den BERG & MEULEMANS, 1991). A evolução das cepas muito virulentas do vírus da doença infecciosa da bolsa tem ocasionado perdas econômicas significativas em muitas zonas de produção avícola. A eficácia oferecida por vacinas contra DIB tem sido avaliada tradicionalmente em aves livres de patógenos específicos (SPF). Sem dúvida, em condições de alto desafio à campo os níveis residuais dos títulos de anticorpos maternos podem interferir na eficácia da vacinação (RAWTENSCHLEIN et al., 2005).

Segundo Becht (1980) apud Cao et al (2005), referindo-se ao controle de DIB em aves Jovens, foi primariamente realizado através da vacinação de cepas vivas atenuadas de VDIB no 1º dia até as 5 semanas de idade, ou através da transferência de altos níveis de anticorpos maternos induzidos pela administração de vacinas vivas inativadas em matrizes. A hiperimunização das matrizes é uma estratégia ainda usada para o controle de DIB em aves com vacinas inativadas, as quais então podem transmitir altos níveis de anticorpos maternos para a progênie. Os anticorpos maternos nas aves são transmitidos através do vitelo de ovos embrionados. Como nos mamíferos, anticorpos derivados maternalmente podem interferir com vacinações no início da vida neutralizando o vírus vacinal e por meio disso reduzindo a carga antigênica necessária para gerar adequada imunidade (BUBLOT et al., 2007).

Em 2004, Moraes et al (2005) desafiaram pintos de 1 dia de idade do 1º ao 22º dia

e a cada 3 dias, em 2 empresas (A e B), desafiaram com uma cepa de campo altamente virulenta (G11) matrizes com diferentes programas de vacinação. Assim, foi possível determinar através de lesões histopatológicas e Elisa (níveis de anticorpos) que as aves estavam protegidas até 6 dias para uma companhia e até 11 dias para outra, tornando dessa forma inútil qualquer estímulo imunológico através de vacinação antes desse período em cada empresa.

Vacinas desenvolvidas contra a doença foram efetivas por aproximadamente 25 anos. Em 1987, uma variante de vírus muito virulenta apareceu e se espalhou em muitos países causando sérias perdas econômicas. As variantes tradicionais não foram efetivas porque a nova cepa modificada antigenicamente foi mais virulenta, e penetrou através dos anticorpos maternos que haviam protegido no passado (BROWN et al., 1994; van den BERG & MEULEMANS, 1991).

As novas vacinas vivas que foram desenvolvidas estavam totalmente atenuadas evoluindo em ordem de redução da virulência até as cepas parcialmente atenuadas, para estimular resposta imune suficiente, e que poderiam conferir proteção contra cepas do vírus muito virulentas (PITCOVSKI et al., 2003). Entretanto, estas novas vacinas vivas intermediárias com cepas mais fortes podem causar imunodepressão e interferir com a imunização de outra vacina, tal como, contra o vírus da doença de Newcastle e doença de Marek.

As vacinas geralmente usadas para DIB são as vivas atenuadas. Estas vacinas vivas atenuadas são agrupadas baseadas em sua virulência residual, ou seja, dependendo do seu nível de atenuação e virulência elas podem ser classificadas em suaves, intermediária e intermediária plus (OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZZOOTIES, 2004).

Além de estratégias mais efetivas no combate e prevenção da DIB, o controle de infecções inclui também a vacinação de matrizes com vacinas inativadas ou vivas atenuadas. As vacinas inativadas são geralmente usadas para formar anticorpos maternos nas aves (ABRAMS, 1990; WYETH et al., 1992). Após a emergência de vírus da doença infecciosa da bursa altamente virulentos, vacinas suaves são geralmente ineficazes, e altos níveis de anticorpos maternos podem interferir com a eficácia das vacinas vivas intermediárias. Entretanto, o problema associado com as vacinas menos atenuadas e as vacinas vivas fortes estão na imunodepressão e podem causar lesões na bursa da Fabrícus de aves vacinadas (MULLER et al., 2003; BUBLLOT et al., 2007).

Apesar de ser a causa de importantes perdas econômicas para a indústria de aves, não há muitos estudos para avaliar a eficácia e habilidade imunodepressiva de vacinas vivas em frangos de corte (GIAMBRONE et al., 1990; GIAMBRONE et al., 2001), especialmente em frangos de corte com títulos residuais de anticorpos maternos (ALAM et al., 2002). As vacinas vivas intermediárias “plus” foram recomendadas para aviários quando amostras virulentas são encontradas. No entanto, em aves vacinadas com esta vacina intermediária mais patogênica têm sido relatadas atrofia da bolsa e imunodepressão.

Um exemplo dos efeitos das vacinas de cepas mais virulentas (menos atenuadas) pode ser verificado por Kim et al (1999), que por um longo período estudando os efeitos das infecções por VDIB e avaliando a recuperação da bursa de Fabrícus, após a inoculação de aves no primeiro dia com dois tipos de vacinas (Intermediária e uma cepa virulenta). No início da infecção, foi observada uma extensa necrose bursal de linfócitos B junto com infiltração de linfócitos T, mais tarde, não foi observada necrose na bursa e a população de linfócitos B estava parcialmente recuperada. Logo, podemos ter uma noção dos danos causados por vacinas mais agressivas devido à recuperação linfocitária ter ocorrido mais rapidamente nas aves vacinadas com vacinas intermediárias do que as vacinadas com cepas virulentas, uma relação de 80% para 40%, respectivamente.

Prejuízos também comprovados por Moraes et al (2004), que puderam observar pesquisando o efeito de 3 tipos de vacinas quanto ao grau de patogenicidade (Intermediária, Intermediária plus e cepa altamente virulenta), constataram que as aves vacinadas com cepas altamente virulentas apresentaram um peso e diâmetro de bursa de 2,9 g - 3 g e 1,75 mm - 2 mm, respectivamente, significativamente inferior quando comparadas com a vacina intermediária que apresentou 5,8-7,2g e 4,3-4,8mm para o peso e diâmetro, respectivamente. O maior efeito pode ser observado através dos exames histológicos em que foi possível averiguar uma depleção linfocitária de até 50% em aves vacinadas com vacinas intermediárias e 89% em aves vacinadas com cepas virulentas.

O êxito dos programas de vacinação depende da capacidade das aves estabelecerem resposta imune após a vacinação. Aliás, a habilidade inata de uma ave estabelecer individualmente uma resposta imune a uma vacina ou infecção, é influenciada por diversos fatores externos que interferem no nível de respostas imunes protetoras, como a infecção por vírus imunodepressores. O uso de vacinas vivas tais como para doença de Marek, anemia infecciosa aviária e DIB acarretam alguns

possíveis problemas, uma vez que a replicação do vírus da vacina pode causar danos às células imunes. Obviamente que a proteção contra as doenças imunodepressoras é mais importante que o efeito negativo da vacina sobre as células imunes (SCHAT, 2007).

A vacinação de campo funciona na maioria dos casos; quando se observa algum problema, isso significa que houve algum erro de vacinação. Na maioria das empresas avícolas do Brasil, as vacinas são realizadas a campo, em massa. Além do que, é administrada por produtores rurais que muitas vezes não têm o conhecimento necessário sobre a importância da vacinação, bem como a sua aplicação eficaz. No campo, utilizar a aplicação da vacina via água de bebida ou “spray”, não significa garantia de cobertura total dos lotes vacinados. Entre algumas razões, podemos citar a determinação do momento ideal da vacinação, presença de fatores inativantes do vírus vacinal como cloro ou íons metálicos e má distribuição do “spray” no caso de fazer uso deste tipo de vacinação (GARDIN et al., 2007).

Um dos fatores essenciais para se estabelecer uma boa resposta imune está na qualidade do processo de aplicação da vacina. O meio mais comum de vacinação contra a DIB é através da água de bebida no campo, contudo a vacinação *in ovo* no incubatório tem sido usada na indução de imunidade protetora (GAGIC et al., 1999; COLETTI et al., 2001; COREY et al., 2001; GIAMBRONE et al., 2001; SHARMA et al., 2002). A otimização de estratégias de vacinação no campo e avaliação de vacinas contra a DIB é essencial para adquirir mais conhecimento sobre as formas de imunização através das vacinas (RAUTENSCHLEIN & HAASE, 2005).

Devido à resistência extrema no ambiente, geralmente se considera que em todas as partes, os frangos são desafiados imediatamente depois que seus anticorpos maternos diminuiram os níveis protetores, com conseqüências clínicas e ou econômicas que variam essencialmente de acordo com o VDIB de campo e idade da infecção. Portanto, se aplica regularmente a vacinação com vacinas vivas atenuadas antes que os frangos se tornem susceptíveis a infecção, mas não há uma idade definida para evitar a interferência da imunidade materna (GARDIN et al., 2007). Com isso, algumas empresas têm procurado substituir o vacinador e a forma de aplicação, ou seja, aplicar a vacina de VDIB individualmente trazendo para si a responsabilidade da vacinação e desta forma melhorando a proteção dos indivíduos.

Através do processo de vacinação, usa-se como estratégia para o controle da DIB formar barreiras hiperimunes, enquanto elas podem transmitir anticorpos maternos para a progênie. Apesar de os anticorpos maternos proverem proteção durante as primeiras

semanas para manter uma barreira imunológica para as aves, é necessária a aplicação de vacina viva atenuada antes de os anticorpos maternos reduzirem a níveis não protetores. Entretanto, os anticorpos maternos podem neutralizar o vírus vacinal e reduzir a carga viral necessária para estabelecer adequada proteção imunológica.

Uma vacina contra a DIB formada por complexo imune tem sido desenvolvida como insensível aos anticorpos maternos e seu mecanismo da indução de imunidade através desta vacina não tem sido inteiramente investigado. Hipóteses são que os anticorpos incorporados na vacina contra a DIB, formado por imuno-complexo protegem o vírus vacinal dos anticorpos maternos e que se localiza no centro germinativo do baço e da bursa, nas células foliculares dendríticas (CORLEY et al, 2002). O complexo-imune de VDIB foi encontrado associado com as células foliculares dendríticas, macrófagos, e células B no centro germinativo da bursa e do baço das aves (JEURISSEN et al., 1994; JEURISSEN et al., 1998). Desta forma, a vacina complexo antígeno – anticorpo contém um vírus vacinal vivo atenuado (cepa Winterfield 2512 VDIB) combinado com anticorpos específicos que evitam o reconhecimento pelo sistema imune do embrião e do pintainho, e sua subsequente neutralização por anticorpos maternos. Por isso, pode ser aplicada precocemente na planta de incubação por injeção em ovo ou no 1º dia na presença de qualquer imunidade passiva. Pois à medida que os pintainhos crescem, os anticorpos ligados à vacina são liberados e eliminados junto com os anticorpos maternos, assim o vírus da vacina se replica e induz imunidade (GARDIN et al., 2007).

Em várias espécies, incluindo as aves, o complexo imune é formado durante a resposta imune para um antígeno introduzido pela segunda vez no organismo através da ligação de anticorpos específicos para o antígeno (CORLEY et al., 2001). Uma pequena proporção do complexo imune antígeno-anticorpo específico fica presa nos linfócitos B dos folículos sobre as células processadas foliculares dendríticas e podem ser retiradas por um longo período de tempo via penetração por receptores do fator complemento e receptores C3 complemento. Antígenos preservados neste meio têm um papel crucial na geração de células B de memória e a manutenção de resposta imune humoral (JEURISSEN et al., 1998).

A grande vantagem do desenvolvimento de vacinas complexo imune de VDIB, é que ela substitui a vacinação no campo sujeita às diversas interferências e à sensibilidade aos anticorpos maternos. Além do mais, a eficácia desta vacina contra desafios é idêntica, ou melhor, que o induzido por clássicas vacinas contra a DIB que

contém a mesma cepa vacinal sem o anticorpo conjugado (HADDAD et al., 1997).

A vacina complexo imune é insensível aos altos níveis de anticorpos maternos (JEURISSEN et al., 1998) e o potencial efeito adverso de cepas de VDIB de considerável virulência residual em aves com baixos níveis de anticorpos maternos é evitado através de anticorpos homólogos adicionados na vacina. A eficácia desta vacina para desafios é idêntica às induzidas por vacinas convencionais sobre DIB, as quais contêm as mesmas amostras de vírus sem anticorpos (HADDAD et al., 1997).

Durante o período de desafio, muitas unidades de anticorpos produzidos têm sido registrados depois da vacinação com VDIB – imuno complexo comparados com vacinas convencionais sem anticorpos. Também pode ser observado que os efeitos imunodepressores em aves SPF, causadas através de amostras de vírus altamente imunogênicas de VDIB - imuno complexo, são marcadamente inferiores quando comparados com a vacinação com amostras de vírus sozinhas (KELEMEN et al., 2000).

Alguns pesquisadores preocupados em aumentar os níveis de títulos de anticorpos maternos na progênie com objetivo de evitar doença clínica, mas ao mesmo tempo também preocupados em evitar os efeitos adversos causados por esses altos títulos maternos sobre as vacinas realizadas ainda enquanto os pintainhos individualmente estão protegidos, tem se aplicado no desenvolvimento de vacinas modernas, capazes de induzir proteção mesmo na presença de altos títulos de anticorpos maternos. Entre elas, com aplicação segura comprovada podemos citar as vacinas recombinantes, ou seja, sem reações vacinais indesejadas e com bom nível de proteção.

A primeira vacina deste tipo, usada comercialmente, foi desenvolvida contra o vírus da hepatite B e foi expressa em *Sacharomyces cerevisiae* (VALENZUELA et al., 1982). Outra levedura de expressão é a levedura *Pichia pastoris*, na qual elevados níveis de proteínas de expressão têm sido mostrados para este vetor (CLARE et al., 1991).

Numerosos estudos têm sido realizados para desenvolver vacinas de VDIB através da expressão da proteína VP2 em vários sistemas de expressão. Como principal hospedeiro protetor de antígeno abrigando a maior parte dos sítios neutralizadores, VP2 tem sido usado para o desenvolvimento de vacinas de subunidades, que superam o risco de reversão. Normalmente segue-se com a imunização das aves, com a expressão do vetor que *in vivo* expressa VP2 continuamente, por exemplo, vetor Herpesvírus aviário (TSUKAMOTO et al., 2002), bacteriófagos (CAO et al., 2005), vírus vetor da varíola aviária (BAYLISS et al., 1991; SHAW & DAVISON, 2000) e vetor da doença de Marek (TSUKAMOTO et al., 1999) ou expressão de VP2 como a proteína

recombinante em sistemas incluindo a *E. coli* (ROGEL, 2003), leveduras (PITCOVSKI et al., 2003) e células de insetos (DYBING & JACKWOOD, 1998).

Avaliando o efeito da proteína VP2 expressada em um bacteriófago T4, pode-se observar a manutenção de requisitos conformacionais de epítomos suficiente para desenvolver alta resposta imune humoral em aves imunizadas, e mais importante, efetivamente proteger aves imunizadas de infecções por vírus altamente virulentos de DIB (CAO et al., 2005).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Delineamento experimental

Foram realizados dois experimentos consecutivos com objetivo de avaliar o desempenho das aves perante quatro tratamentos (duas vacinas de cepa forte, uma recombinante e o grupo controle negativo).

No experimento I foi avaliado o desempenho de cada lote que correspondeu a um ciclo de produção (repetições), distribuídas em 5 produtores integrados, com 3 repetições em cada um. Igualmente, no experimento II foram usados ciclos de produção, distribuídas em 6 produtores integrados (unidades de avaliação) com 5 repetições em cada unidade.

Os produtores integrados participantes do experimento foram escolhidos ao acaso dentre aqueles que possuíam três aviários, sendo que cada aviário alocou um tratamento e o seu respectivo controle.

3.2. Vacinas

Os tratamentos foram divididos em três diferentes tipos de vacinas para VDIB usadas em cada unidade de produção, sendo uma vacina contendo uma cepa forte/WinterField 2512 (A), uma vacina complexo antígeno – anticorpo com uma cepa forte/Winterfield 2512 (B) ligado ao anticorpo específico e uma vacina recombinante vetorizada com o gene da proteína VP2 de VDIB inserido em um Herpesvírus (C). O quarto tratamento era o grupo controle negativo de aves não vacinadas, e que cada tratamento de aves vacinadas detinha o seu controle negativo no aviário o qual estava alojado.

3.3. Vacinação

As vacinas foram reconstituídas conforme indicações do fabricante e as aves foram vacinadas por via subcutânea no primeiro dia de idade no incubatório. Todas as aves foram vacinadas contras as doenças de Marek e bronquite infecciosa (BI) no primeiro dia no incubatório.

As vacinas convencionais de cepa forte Winterfield 2512 foram enviadas para

cada integrado junto com o lote de aves, em uma caixa isotérmica à 4°C para serem realizadas via água aos 07 e 14 dias de idade.

Para a vacina de cepa forte Winterfield 2512 complexo antígeno – anticorpo o procedimento de vacinação foi através da aplicação da vacina por via subcutânea no primeiro dia de idade dos pintainhos no incubatório, juntamente com as vacinas de Marek e BI.

Aves vacinadas com vacina vetorizada recombinante VP2 tiveram sua aplicação efetuada no primeiro dia no incubatório por via subcutânea. Neste caso, como o vetor é um Herpesvírus HVT, já estava incluída a cepa de vacina de Marek e não foi necessário usar outra vacina para a prevenção dessa doença.

3.4. Local e período de execução

Os experimentos foram conduzidos em produtores integrados de frango de corte de uma Empresa do Vale do Taquari, RS. O período de execução deste trabalho foi de um ano, estendendo-se de agosto de 2007 a agosto de 2008. Pelo fato de esse trabalho necessitar de um longo período de execução, e a empresa ter determinado a troca dos programas de anticoccidianos e antimicrobianos na ração, houve a necessidade de separação em dois períodos de execução, portanto, dois experimentos. O experimento I foi realizado de Agosto de 2007 à novembro de 2007 em cinco unidades produtoras e o experimento II foi realizado de novembro de 2007 à agosto de 2008 nas mesmas unidades produtoras, com a diferença que nesse último foi aumentada uma unidade.

3.5. Manejo das Aves

A origem dos pintainhos para a formação dos lotes de frango de corte foi de um único incubatório pertencente à empresa, visto que, todos os lotes provinham de matrizes entre 30 e 60 semanas de idade de produção terceirizada pela empresa. A linhagem utilizada foi a Ross e somente as fêmeas foram usadas para o experimento.

Os aviários utilizados eram de chão batido e suas dimensões variavam de 600 m² à 1950 m². Para a cobertura do solo foi usado cepilho de madeira (maravalha) ou casquinha de arroz como recurso para cama aviária, sendo esta reutilizada em 8 ciclos produtivos e a recomendação para o seu manejo consistia em revolvimentos diários. Os aviários eram equipados com comedouros automáticos ou tubulares convencionais,

bebedouros pendulares ou *nipple* e foram utilizados do primeiro ao último dia de vida das aves.

As aves foram alojadas em 40% do aviário perfazendo uma densidade média em torno de 40 aves/m² e aos 12 dias de idade já ocupavam todo o aviário em uma densidade média de 15 aves/m². A temperatura do aviário foi mantida de acordo com a temperatura de conforto das aves para cada idade e assim, conforme o comportamento das aves, as cortinas eram abertas gradativamente e manejadas ao longo do período de criação de acordo com as variações de temperatura. As aves receberam água e ração *ad libitum*.

Foram utilizados quatro tipos de dietas, conforme a fase de criação: ração pré-inicial (01 - 07 dias); inicial (08 – 20 dias); crescimento (21 – até 6 dias antes do abate) e final (6 dias antes do abate). Todas as aves receberam o mesmo tipo de dieta alimentar e à água de bebida para as aves era recomendado o tratamento com cloro, que permanecia em uma concentração constante de 5 ppm no encanamento e 1 ppm no bebedouro. As aves foram abatidas em idades que variaram de 31 à 35 dias entre cada unidade de avaliação, no entanto, a idade de abate em cada unidade sempre foi à mesma para cada ciclo de produção.

Para o abate das aves foi recomendado um período de jejum alimentar com dieta hídrica de seis horas para esvaziamento do papo das aves.

Entre os lotes, os aviários eram preparados utilizando o plano de biosseguridade padrão adotado pela empresa de limpeza do aviário no intervalo entre os lotes. Nestes, eram realizados controle de roedores e insetos, queima de penas com revolvimento da cama com retirada dos cascões e reposição de cama nova no local de alojamento (pinteiro). O período de intervalo entre os lotes foi adotado em todo o experimento na média de 15 dias, o qual poderia variar entre 12 e 18 dias.

3.6. Plano de Amostragem

O plano de amostragem para determinação dos parâmetros de desempenho zootécnico deste trabalho consistiu em uma divisão em dois períodos ao longo de um ano. O primeiro período definido pelo experimento I avaliou 164.000 aves por ciclo de produção, chegando ao final desse teste com 492.000 aves avaliadas divididas em 15 lotes por tratamento. O segundo período envolveu 244.000 aves por ciclo de produção, totalizando 1,220 milhão de aves avaliadas em 27 lotes por tratamento. No experimento

II ainda foram coletados sangue total e realizadas pesagens semanais.

3.6.1. Coleta de dados de desempenho

Para determinação dos índices de desempenho zootécnico, os dados foram coletados por ocasião do abate de cada lote (um lote = um aviário = um tratamento) através das informações de sobras de ração em cada aviário fornecidos pelo produtor, peso ao abate fornecido pelo abatedouro e o total de ração consumido no lote fornecido pelo sistema de fábrica de rações.

No experimento I e II, foram determinados os índices de desempenho zootécnico de Peso Corporal (PC), Conversão Alimentar (CA), Ganho de Peso Diário (GPD), Índice de Eficiência Produtivo (IEP) e Mortalidade (Mort) dentro da mesma idade de abate, medidos através de anotações de consumo de ração, mortalidade e pesagens ao abate.

3.6.2. Coleta de pesos na unidade de avaliação

No experimento II, para análise de desempenho dos controles negativos em comparação com os tratamentos de aves vacinadas foram realizados pesagens semanais. Foi realizada pesagem aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade das aves. As aves eram pesadas sempre no mesmo horário em que tinham sido pesadas na primeira pesagem (aos sete dias). O grupo controle negativo foi marcado com corante usado para monitorar as vacinas via “spray”, com o objetivo de sabermos quais eram as aves não vacinadas no lote, pois essas estavam distribuídas entre as vacinadas.

3.6.3. Coleta de sangue total

Aos 21 dias de idade foi coletado sangue total de 20 aves por tratamento. Foi fixado um n de 10 para cada tratamento para determinação dos Títulos Geométricos Médios dos vacinados (GMT V) e dos Títulos Geométricos Médios dos não vacinados (GMT NV). O sangue total de cada amostra era acondicionado em recipiente de capacidade de 1 ml e remetido para o laboratório em uma caixa isotérmica com gelo

reciclável. No laboratório da empresa, do sangue total era extraído o soro para análise dos títulos.

3.7. ELISA

As amostras de soro foram analisadas no laboratório da empresa e os títulos para determinação dos níveis de anticorpos para VDIB foram determinados usando um Kit de ELISA comercial (IDEXX flockchek® IBD, IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine, USA).

3.8. Análise Estatística

Os resultados foram analisados pelo programa computacional JMP 6.0 Statistical Discovery. TM From SAS copryright © 2005 SAS Institute Inc.

4 RESULTADOS

4.1. Experimento I – Avaliação do Desempenho das Aves no período de Agosto 2007 a Novembro de 2007.

Os dados de desempenho do experimento 1, realizado no campo das três vacinas para a doença de gumboro são apresentados na tabela 1.

Todos os parâmetros foram medidos conforme a idade de abate especificado na tabela, na qual parâmetros de produção foram calculados baseados no consumo de ração final e peso ao abate. Os lotes apresentaram uma pequena variação na idade de abate, contudo, não interferiu na análise dos resultados, uma vez que a média de idade foi igual para todas as vacinas testadas em cada unidade experimental.

Tabela 1 – Teste 1: Avaliação de Peso corporal (PC), e Conversão Alimentar (CA), Índice de Eficiência Produtivo (IEP), Ganho de Peso Diário (GPD) e Mortalidade (Mort) para as diferentes vacinas utilizadas.

Tratamentos	Idade (dias)	PC (g)	CA	IEP	GPD (g)	Mort (%)
A	31,8	1421	1,604 ^a	272,84 ^a	45,2	1,93
B	31,8	1410	1,605 ^a	272,39 ^a	44,4	1,57
C	31,8	1448	1,568 ^b	286,19 ^b	45,5	1,59
CV	1,72	3,93	2,45	5,44	3,51	47,78

N=15

* p < 0,05. Médias nas colunas, seguidas por letras diferentes, indicam diferenças estatísticas significativas para o teste de Tukey.

Com base nos resultados apresentados na tabela 1, observa-se que os parâmetros de produção de peso, mortalidade e ganho de peso diário não apresentaram diferenças estatísticas significativas nas médias de desempenho, quando avaliadas ao nível de significância de 5 %. Podendo inferir desta forma que as diferentes vacinas utilizadas não se diferenciam entre si para estes indicadores.

Para as demais variáveis de desempenho como a conversão alimentar e o Índice de eficiência produtivo, houve diferença estatística significativa entre as médias de desempenho (p < 0,05). Dentre os tratamentos com as vacinas de diferentes graus de

patogenicidade, pode-se constatar que a vacina recombinante demonstrou um melhor índice de conversão alimentar (CA). E como não poderia ser diferente, isso é refletido em uma diferença estatística significativa também para o índice de eficiência produtivo, uma vez que a CA interfere diretamente no resultado dessa variável.

4.2. Experimento II – Avaliação do Desempenho das Aves no período de Novembro 2007 a Agosto de 2008.

Na tabela 2 são apresentados os dados zootécnicos de desempenho realizados no teste 2, e os parâmetros de produção foram calculados da mesma forma como demonstrados no teste 1.

Tabela 2 – Teste 2: Avaliação de Peso corporal (PC), Conversão Alimentar (CA), Índice de Eficiência Produtivo (IEP), Ganho de Peso Diário (GPD) e Mortalidade (Mort) para as diferentes vacinas utilizadas no teste 2.

Tratamentos	Idade (dias)	PC (g)	CA	IEP	GPD (g)	Mort (%)
A	32,2	1454	1644	268,86	45,4	2,61
B	32,2	1455	1644	269,81	45,3	2,36
C	32,2	1489	1617	281,21	46,1	1,97
CV	4,11	6,12	4,31	9,32	5,55	53,69

N= 27

* $p > 0,05$. As médias não apresentaram diferença estatística significativa para o teste de Tukey.

De acordo com os resultados apresentados na tabela 2, foi possível observar que as médias das variáveis de desempenho para peso, conversão alimentar, Índice de Eficiência Produtivo, Ganho de Peso Diário e Mortalidade não apresentaram diferença estatística significativa a um nível de confiança de 95%.

Um dado bastante relevante é o alto coeficiente de variação para o percentual de mortalidade encontrado tanto no teste 1 como também no teste 2. Esse fato se deve a alto desvio padrão encontrado na distribuição dos dados em relação à média dos pontos.

Na tabela 3, são apresentadas as pesagens corporais verificadas semanalmente aos 07, 14, 21 e 28 dias de idade. Foram comparados os resultados entre os tratamentos e

também em relação aos grupos controles de cada vacina utilizada.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 3, é possível afirmar que as vacinas não apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre si nem com os controles quando foram medidos os pesos das aves experimentais.

Tabela 3 – Teste 2: Avaliação de Peso corporal aos 07, 14, 21 e 28 dias de idade dos três tratamentos Vacinados (V) e do grupo controle não vacinado (NV) para cada tratamento.

Tratamentos	7 V (g)	7 NV (g)	14 V (g)	14 NV (g)	21 V (g)	21 NV (g)	28 V (g)	28 NV (g)
A	165	163	398	402	776	768	1216	1237
B	167	168	404	400	780	785	1225	1233
C	166	168	409	402	787	780	1243	1255
CV	9,75	10,3	11,1	11,64	11,74	11,8	9,37	10,38

N=27

$p > 0,05$. As médias não apresentaram diferença estatística significativa para o teste de Tukey.

4.3. Resultados dos Títulos Geométricos Médios determinados por ELISA.

Observou-se que os títulos geométricos médios dos grupos vacinados e o grupo controle não vacinados não apresentam diferença significativa nas médias entre as vacinas A, B e C quando avaliadas em um intervalo de confiança de 95% (Tabela 4).

Tabela 4 – Teste 2: Avaliação dos Títulos Geométricos Médios dos grupos vacinados (GMT V) A, B e C e também do grupo controle de não vacinados (GMT NV) em cada tipo de vacina.

Tratamentos	GMT V	GMT NV
A	188,0	126,8
B	149,9	98,6
C	84,7	59,0
CV	155,96	179,67

N=10

* $p > 0,05$. As médias não apresentaram diferença estatística significativa para o teste de Tukey.

Na Tabela 4, percebe-se que as diferenças não são significativas para os títulos de ELISA obtidos nas aves vacinadas expressos na coluna GMT V, embora seja notada a tendência da vacina recombinante (A) apresentar títulos menores que as demais. Em contraste com isto, a vacina A induziu títulos superiores com diferença de 38,1 e 103,3 para as vacinas B e C, respectivamente.

Quando comparamos o perfil sorológico de aves não vacinadas ao qual nomeamos de GMT NV também não é possível demonstrar nenhuma diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos, entretanto, o fenômeno observado evidencia o escape de vírus vacinal para os controles.

4.4. Resultado Econômico.

De acordo com os resultados obtidos, foram calculados os índices econômicos de utilização das vacinas em uma integração avícola que abate por volta de 450.000 aves por dia.

O custo de vacinação levou em consideração todas as doses e estabilizantes usados para cada vacina. E conforme pode ser visto na tabela 5, apresentou margens de custo bem diferenciados entre um programa e outro de vacina, sendo que, a vacina recombinante representa 85% e 44% de custo a mais que as vacinas A e B, respectivamente.

Tabela 5 – Simulação de custo x benefício de uso das vacinas A, B e C na integração avícola.

Vacina	Abate	Custo de vacinação *	Custo Total Ração**	Renda Líquida (Lucro Bruto*** - custo da vacinação - custo de ração)	Diferença (%) x Vacina C
A	450.000	3.820,40	14.723,60	1.102.424,63	- 1,93 %
B	450.000	11.565,00	13.218,48	1.090.362,96	- 2,10 %
C	450.000	20.700,00	11.070,21	1.118.004,05	0

* Conforme especificação técnica usada pela empresa integradora.

** Cálculo da Conversão Alimentar e custo/kg da ração da integradora.

*** Peso corporal x R\$ 1,80/kg.

Para o custo de ração, foi usada a CA como parâmetro de produção para medir o custo obtido para todas as vacinas, conforme o volume de ração consumido para cada

tratamento. Sendo que neste caso a vacina A apresentou o custo mais elevado, justamente por apresentar uma CA inferior em termos de desempenho em relação às vacinas B e C. Assim, a vacina mais barata tornou-se economicamente a mais cara.

Finalmente, como pode ser observada na Tabela 5, tomando por base a vacina C que apresentou resultados de desempenho estatisticamente significativos superiores no teste 1 em relação as demais, representou para essa integração avícola um ganho de 1,93 % quando comparada com a vacina A e um ganho ainda maior de 2,10 % quando comparada com a vacina B.

5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar o desempenho das aves submetidas a três diferentes programas vacinais com uma vacina recombinante, uma vacina complexo antígeno-anticorpo e uma vacina de cepa forte convencional. No entanto, como este trabalho foi realizado com intuito de saber a resposta dessas aves a programas tradicionalmente usados pela indústria e programas mais modernos em condições adversas de campo, fatores externos de ambiente não puderam ser controlados. Mas de qualquer forma, de acordo com os resultados encontrados foi possível expressar a realidade determinada pela literatura consultada.

É sabido que, normalmente, as empresas avícolas utilizam programas vacinais agressivos com o intuito de prevenir a doença de Gumboro clínica, e assim vencer o desafio contra vírus altamente virulentos presentes no campo. Entretanto, acabam desconhecendo os prejuízos causados ao desempenho das aves, justamente por estarem introduzindo no plantel vacinas altamente virulentas muito pouco atenuadas e que determinam depressão do sistema imune das aves. As vacinas de alta patogenicidade podem levar à destruição parcial ou total da bursa de Fabrícus (MORAES et al., 2004) e assim reduzir ou inibir completamente a resposta do sistema imune a outras vacinas ou desafios no campo.

Quando avaliamos as variáveis de desempenho de PC, GPD e Mortalidade, tanto no teste 1 como no teste 2, verificamos que todas apresentaram o mesmo perfil. Embora sem diferença estatística para esses parâmetros, é possível notar a tendência da vacina A apresentar um peso médio de abate de valor aproximado quando comparado à vacina B. Por outro lado, quando essas são confrontadas com os valores atingidos pela vacina C, apresentam um peso médio inferior chegando a diferenças de 45 e 44 gramas para as vacinas A e B, ambas no teste 2, respectivamente. E como já era esperado, os resultados de mortalidade com a vacina A apresentaram índice superior de 0,34% e 0,64 % em relação à vacina C concomitantemente nos testes 1 e 2. Ainda que essa diferença não seja estatisticamente significativa nos dá a indicação de efeito de patogenicidade, ou seja, como pode ser observado em ambos os testes, a vacina A foi a cepa mais agressiva, a qual proporcionou um maior desafio às aves e demonstrou maior grau de virulência, ocasionando uma mortalidade maior. É possível que esta tendência dos números seja comprovada estatisticamente, se for utilizada uma amostra experimental maior.

No entanto, comparando o efeito de imunogenicidade e o efeito imunodepressivo de cepas suaves, intermediárias e intermediária plus com a vacina VDIB-imunocomplexo vacinados no incubatório aos 18 dias de incubação, Kelemen et al (2000) registraram maiores pesos corporais para as vacinas antígeno-anticorpo, o que não foi evidenciado no presente trabalho em que os resultados foram semelhantes ao da vacina convencional. Além disso, o autor descreve o efeito imunodepressor em aves SPF causado por cepas de vírus altamente patogênicas da vacina imunocomplexo que são marcadamente moderados através dos anticorpos, quando comparado com as vacinas com cepas virais sozinhas. Isso pode ser elucidado pela vacina B quando comparada à vacina A, através dos efeitos patogênicos observados nos resultados de desempenho que são bem mais intensos nesta última.

Dados semelhantes também podem ser vistos em outras análises, quando em condições de campo foi comparado a eficácia de uma vacina recombinante contra uma vacina padrão de cepa intermediária (GOUTEBROZE et al., 2003). Nesse caso, também não encontraram diferença para os índices de produção de mortalidade, peso corporal e conversão alimentar. Segundo o autor, a vacina recombinante expressando a proteína VP2 do vírus da doença de Gumboro em um Herpesvírus HVT foi produzida para ser usada na presença de anticorpos maternos. O uso desta vacina foi previamente demonstrado ser completamente seguro, em particular para bolsa de Fabrício, na qual não produziu depleção linfocitária em contraste com as vacinas de cepas altamente virulentas. Igualmente, em estudo de campo Pitcovski et al (2003), testaram uma vacina recombinante VP2 inserido em uma bactéria *Pichia pastoris* comparada à uma vacina com vírus inativado da bursa, e ela não apresentou diferença para os parâmetros de PC, CA e mortalidade.

Entretanto, no teste 1, as variáveis de CA e IEP apresentaram diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$, apontando a vacina C como sendo mais favorável ao desempenho das aves chegando a níveis de 36 gramas de CA menor quando comparado às vacinas A e B. Embora no teste 2 as características dos resultados para estes parâmetros sejam semelhantes, não houve diferença estatística para nenhuma das vacinas avaliadas. Resultados esses que confirmam os dados apresentados por Fernandez et al (2007), que em estudo clínico de campo em três países da América Latina testaram o uso de uma vacina com o gene VP2 inserido em um vetor HVT do vírus de Marek em 595.000 aves e como resultado apresentou alta média de peso, baixa conversão alimentar e menor mortalidade quando comparadas às outras vacinas

atualmente utilizadas no mercado.

Apesar de não ser uma observação estatística, é possível verificar que os dados de desempenho obtidos no teste 2 possuem a mesma curva de produção demonstrados no teste 1, ou seja, a vacina recombinante que no teste 1 foi estatisticamente significativa para conversão alimentar, também pode ser vista no teste 2 com desempenho superior de 27 gramas em relação as vacinas A e B, no entanto, sem diferença significativa ($p > 0,05$). Do mesmo modo, como foi observado nos pesos médios dos lotes, o peso corporal registrado semanalmente na tabela 3 vem confirmar uma tendência já descrita nos resultados de desempenho das tabelas 1 e 2. Como pode ser visto na tabela 2, mesmo sem apresentar diferença estatística significativa, a vacina C apresentou um ganho no peso corporal de 35 e 34 gramas em relação às vacinas A e B, respectivamente. Isso pode ser atribuído a vacina C por se tratar de uma vacina de origem recombinante, e por isso um bom imunógeno de baixa patogenicidade, que atua na produção de anticorpos sem debilitar o sistema imune das aves, não causando destruição às células da bursa de Fabrício. Logo, podemos constatar que realmente, no momento em que as aves estão sob estresse imunológico, além de diminuir o apetite das mesmas reduzindo o peso médio, também direcionam a via metabólica de aminoácidos na produção de anticorpos e assim reduzem a eficiência alimentar.

Utilizamos os dados dos títulos médios geométricos (GMT) para a doença de Gumboro com o objetivo de verificar o nível de proteção atingido por cada vacina, comparando o resultado entre elas e também ao seu lote controle de aves não vacinadas. Durante a análise de resultados dos GMTs, nos deparamos com o que podemos chamar de erro experimental, ou seja, as aves não vacinadas, as quais não deveriam apresentar titulação alguma, apresentaram títulos relativamente altos quando comparadas aos lotes vacinados. Isso é explicado pelo fato de estarmos trabalhando com as vacinas A e B, que são constituídas de vírus vivo, além das condições de campo em que o experimento foi realizado. Em função de que as unidades experimentais não possuíam nenhuma barreira de isolamento entre os lotes, o manejo era realizado pela mesma pessoa e estavam localizados no mesmo ambiente, provavelmente os vírus vacinais A e B replicaram e desafiaram os lotes presentes nesse mesmo ambiente. Inclusive as aves não vacinadas destes tratamentos e as controles do lote com a vacina C que estavam sem proteção. Por outro lado, esse evento nos mostra os quantos às aves não vacinadas induziram imunidade através de replicação e transmissão do vírus vacinal via horizontal. Contudo, a presença de vacinas de cepa forte altamente virulenta (Vacina A

e B) não induziu a formação de anticorpos de tal forma que determinasse diferença estatística significativa para a vacina C, mesmo sendo duas vacinas com alta capacidade antigênica e imunogênica.

Uma vez que, o padrão dos resultados encontrados pode ser confirmado com os resultados já descritos por Jeurissen et al (1998), as vacinas VDIB- imunocomplexo e o vírus vacinal sozinho, ambas causam depleção das células B nos folículos da bursa, embora o vírus vacinal sozinho seja muito mais severo e demore bem mais tempo para repovoar os folículos. Estes fatos podem ser complementados com os dados obtidos por Bublot et al (2007), os quais testaram uma vacina recombinante com o gene VP2 inserido, aplicada no primeiro dia de idade, na presença de altos títulos de anticorpos maternos e não induziram visíveis alterações patológicas ou significativas lesões microscópicas na bursa. Em contraste, uma vacina convencional intermediária de vírus vivo atenuado induziu moderada a severas lesões na bursa de Fabrícus. Porém, eventos registrados por Rautenschlein et al (2005), que compararam quatro diferentes vacinas (3 intermediárias, 1 intermediária plus), observaram que somente a vacina intermediária plus induziu significantes títulos de anticorpos 21 dias após a vacinação na presença de anticorpos maternos, tal como lesões na bursa de Fabrícus. As demais vacinas intermediárias induziram titulação 35 dias após a vacinação quando aplicadas na ausência de anticorpos maternos com a presença também de lesões na bolsa. Segundo van den Berg et al (1991) apud KABELL et al., (2005), cepas vacinais suaves são eficientes somente quando as aves não possuem títulos maternos ou possuem muito poucos, enquanto as cepas intermediárias incluindo D78 e as cepas fortes podem romper altos níveis de títulos de anticorpos maternos.

Embora, as vacinas vivas em geral sejam as mais eficazes, pois são aquelas que melhor mimetizam a infecção natural induzindo uma resposta imunológica semelhante à que ocorre durante a exposição natural ao agente, foi à vacina C, uma vacina recombinante, considerada uma vacina de baixa patogenicidade que induziu bons níveis de anticorpos capazes de proteger as aves para o desafio de campo ao qual estavam potencialmente submetidas neste teste.

Os dados apresentados corroboram os resultados apresentados por Moraes et al (2004), que testaram 8 vacinas, sendo três intermediárias, duas intermediária plus e três vacinas com cepa virulenta. As vacinas com diferentes graus de patogenicidade apresentaram resultados similares para os títulos de anticorpos de DIB, principalmente quando comparamos às vacinas intermediárias plus e as vacinas virulentas com as

vacinas mais atenuadas para este teste, em que um dos grupos das vacinas mais atenuadas apresentou também resultados não significativos comparados às mais virulentas. Embora, neste mesmo experimento os outros dois grupos de vacinas mais atenuadas apresentaram títulos estatisticamente menores em relação as vacina mais virulentas.

Já Tsukamoto et al (2002), em estudo avaliando a eficácia das vacinas recombinantes, neste caso um outro HVT vetorizado, encontrou títulos maiores para a vacina com o gene VP2 inserido, quando comparada à vacina viva convencional para VDIB. Nenhuma das aves vacinadas com o gene VP2 estava desprotegida a tempo do desafio. Concordando também com os dados apresentados por Bublot et al (2007), que foi possível relatar após a vacinação excelentes níveis de proteção, de 95 – 100%, após desafios com diferentes cepas de DIB. Encontrando com isso similar imunogenicidade para a vacina recombinante apresentada anteriormente.

Como não houve diferença estatística para o GMT nas provas sorológicas (ELISA) das diferentes vacinas, a primeira opção na escolha de uma vacina seria a C, que proporcionou um desempenho técnico e econômico superior, conforme o demonstrado nas tabelas 1 e 5 respectivamente. No entanto, o episódio de escape de vírus vacinal não deve ser desconsiderado na escolha da vacina, pois em situações de alto desafio no campo com persistência do vírus na natureza, onde há alta concentração de aviários na região, com a presença de outras integrações avícolas com programas vacinais desafiadores e lotes de várias idades dispersos na proximidade, pode ser determinante. O programa vacinal não deve ser engessado, ou seja, não devemos depositar toda a responsabilidade de uma integração em um único tipo de vacina e sim começar a usá-las de acordo com a realidade de cada região.

O estabelecimento de um programa de vacinação não é algo que obedeça a calendários “mágicos” e pré-elaborados para uso em série, encontrados facilmente no mundo da avicultura. A estratégia de vacinação deve contemplar uma série de fatores, entre eles a proteção dos animais contra a doença, reduzir ao máximo a imunodepressão posterior induzida pela vacina e melhorar o desempenho produtivo das aves. Também não se pode esquecer que, geralmente, o vírus vacinal de Gumboro encontra o sistema imunológico íntegro e capaz de gerar uma resposta vigorosa contra ele. Assim, apesar da sorologia com altos títulos para Gumboro, a ave poderá estar imunodeprimida em função dos danos causados pelas vacinas à bolsa de Fabrício. A consequência será a imunodepressão para outras enfermidades quando houver depleção linfocitária

decorrente da multiplicação do vírus vacinal. Ou seja, a resposta sorológica contra o vírus vacinal da doença de Gumboro poderá ser alta, contudo isto não significará, necessariamente, integridade do sistema imunológico (MORAES et al., 2004).

O caminho para a tomada de decisões é sabermos se a situação é de alto ou baixo desafio, através de um mapeamento usando critérios técnicos com análises laboratoriais e análises de risco, tais como, vazios de alojamento, densidade regional, proximidades com outras integradoras, desafio microbiológico nos galpões, níveis de micotoxinas, entre outros. De acordo com os critérios citados, alguns anos atrás seriam tomadas providências de forma empírica, pois não possuíamos a tecnologia que atualmente dispomos em nossas mãos. Através de trabalhos desenvolvidos pelo Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA), descritos em dissertações e teses usando redes neurais e outras ferramentas de modelagem, podemos gerar os critérios para definir regionalmente o risco de doença em cada área e assim estar usando de forma segura a vacina mais adequada para cada realidade.

Esses conceitos são muito bem elucidados por Rocha (2006) que testando amostras de cepas de *E. coli* conseguiu definir entre amostras de baixa patogenicidade ou apatogênica e patogenicidade intermediária ou alta com percentual de classificação correta acima de 80%. As características do modelo permitiram a classificação da patogenicidade das amostras isoladas nos galpões com bom grau de confiabilidade, levadas em conta a sensibilidade e a especificidade. Salle et al, (1999b, 1999c, 1999d) já faziam uso da modelagem matemática, através de estatística convencional, no intuito de explicar o comportamento sorológico das aves, assim como também, desenvolveram um trabalho no qual correlacionou os níveis de aflatoxinas e ocratoxinas com os parâmetros de produção (SALLE et al., 1999a).

Salle et al, (2001, 2003), entre outros trabalhos, nesta linha de pesquisa com modelos matemáticos, usaram redes neurais artificiais para explicar parâmetros de produção na cadeia avícola, tanto para reprodutoras pesadas em recria, como para frangos de corte, e conseguiam explicar os parâmetros de desempenho das aves. Além disso, esse método permitiu definir o percentual de participação de cada variável sobre o desempenho das aves, e assim, o corpo técnico poderá tomar decisões futuras objetivas na busca do melhor manejo para o melhor desempenho das aves.

6 CONCLUSÕES

1 – Para os parâmetros de produção de peso corporal, mortalidade e ganho de peso diário não houve diferença estatística significativa de desempenho em nenhum dos testes realizados para as vacinas avaliadas. No entanto, esses números indicam a vacina C como sendo a menos agressiva, por apresentar índice de mortalidade de até 0,64% menor no teste 2.

2 - No caso das variáveis de CA e IEP, a vacina C provou ser a mais favorável ao desempenho das aves, a qual chegou a níveis de 36 gramas de CA menor, quando comparado às vacinas A e B. Embora, no teste 2 as características dos resultados para estes parâmetros sejam semelhantes, não apresentando diferença estatística.

3 - A vacina C em avaliação de custo/benefício representou para essa integração avícola um ganho de 1,93 %, quando comparado com a vacina A e um ganho de 2,10 % quando comparada com a vacina B.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, L. Immunisation against infectious bursal disease. **Vet. Rec.**, v. 126, p. 441, 1990.

ALAM, J. M. et al. Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease. **Journal Poultry Science**, v. 1, p. 98-102, 2002.

Associação Brasileira Dos Produtores e Exportadores de Frango. **Disponível por www.abef.com.br**, 2007.

BAYLISS, C. D. et al. A recombinant fowlpox virus that expresses the VP2 antigen of infectious bursal disease virus induces protection against mortality caused by the virus. **Arch. Virol.**, v. 120, p. 193-205, 1991.

BÖTTCHER, B. et al. Three-dimensional structure of infectious bursal disease virus determined by electron cryomicroscopy. **J. Virol.**, v. 71, p. 325 – 330, 1997.

BRANDT, M. et al. Molecular determinants of virulence , cell tropism, and pathogenic phenotype of infectious bursal disease virus. **J. of Virol.**, v.75, n. 24, p. 11974-11982, 2001.

BROWN, M. D.; GREEN, P.; SKINNER, M. A. VP2 sequences of recent European “very virulent” isolates of infectious bursal disease vírus are closely related to each other but are distinct from those of “classicalstrains”. **J. Gen Virol.**, v. 75, p. 675-680, 1994.

BUBLLOT, M. et al. Use of a Vectored Vaccine against Infectious Bursal Disease of Chickens in the Face of High-Titred Maternally Derived Antibody. **J.Comp. Path.**, v.137, S81-S84, 2007.

CAO, Y. C. et al. Vaccination against very virulent infectious bursal disease virus using recombinant T4 bacteriophage displaying viral protein VP2. **Acta Biochim Biophys Sin** (Shanghai), v. 37, p. 217-226, 2005.

CLARE, J. J. et al. High level expression of tetanus toxin fragment C in *Pichia pastoris*. **Bio Technology**, v. 9, p. 455-460, 1991.

COLETTI, M. et al. Efficacy and safety of na infectious bursal disease vírus intermediate vaccine in ovo. **Avian Disease**, v. 45, p. 1036-1043, 2001.

CORLEY, M. M.; GIAMBRONE, J.J.; DORMITÓRIO, T. V. Detection of infectious bursal disease vaccine viruses in lymphoid tissues after in ovo vaccination of specific-pathogen-free embryos. **Avian Disease**, v. 45, p. 897-905, 2001.

CORLEY, M. M.; GIAMBRONE, J.J.; DORMITÓRIO, T. V. Evaluation of the immune reponse and detection of infectious bursal disease viruses by Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay after in ovo vaccination of commercial broilers. **Avian Diseases**, v. 46, p. 803-809, 2002.

DYBING, J. K.; JACKWOOD, D. J. Antigenic and immunogenic properties of baculovirus-expressed infectious bursal disease viral proteins. **Avian Disease**, v. 42, p. 80–91, 1998.

EDWARDS, K. R.; MUSKETT, J. C.; THORNTON, D. H. Duration of immunosuppression caused by a vaccine strain of infectious bursal disease. **Res. Vet Sci.**, v. 32, p. 79-83, 1982.

FAHEY, K. J.; ERNY, K.; CROOKS, J. A conformational immunogen on VP2 of infectious bursal disease virus that induces virus-neutralizing antibodies that passively protect chickens. **J. Gen Virol**, v. 70, p. 1473-1481, 1989.

FERNANDEZ, R. et al. Field efficacy in broiler chickens in Latin America of vHVT-013, a Marek's HVT vector vaccine expressing VP2 on Infectious Bursal Disease virus. In: **World Veterinary Poultry Congress**, 15th. Beijing – China, p.199, 2007.

GAGIC, M.; HILL, C. A. St.; SHARMA, J. M. In ovo vaccination of specific-pathogens-free chickens with vaccines containing multiple agents. **Avian Disease**, v. 43, p.293-301, 1999.

GARDIN, Y. et al. Hallazgos recientes de la enfermedad de Gumboro: los lotes mal vacunados no están protegidos!. In: XX Congresso Latinoamericano de Avicultura, XX, 2007, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre - Brasil, 2007, p.125 - 131.

GIAMBRONE, J. J.; CLOSSER, J. Efficacy of live vaccines against serologic subtypes of infectious disease virus. **Avian Disease**, v. 34, p. 7-12, 1990.

GIAMBRONE, J. J.; DORMITÓRIO, T. V.; BROWN, T. Safety and efficacy of in ovo administration of infectious bursal disease virus vaccines. **Avian Disease**, v. 45, p. 144-149, 2001.

GOUTEBROZE, S. et al. Efficacy of a recombinant vaccine HVT-VP2 against Gumboro disease in the presence of maternal antibodies. **British Poultry Science**, v. 44, p. 824-825, 2003.

HADDAD, E. E. et al. Efficacy of a novel infectious bursal disease virus (IBDV) immune complex vaccine in broiler chickens. **Avian Disease**, v. 41, p. 882 - 889, 1997.

IVÁN, J. et al. Functional restoration of the bursal of fabricius following in ovo infectious bursal disease vaccination. **Vet. Immunol and Immunop.**, v. 79, p. 235-248, 2001.

JEURISSEN, S. H. M. et al. The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious disease. **Immunology**, v.95, p. 494-500, 1998.

JEURISSEN, S. H. M.; VERVELDE, L.; JANSE, E. M. Structure and function of lymphoid tissues in the chicken. **Poultry Science**, v. 5, p. 183-207, 1994.

KABELL, S. et al. Detection of vv IBDV in Vaccinated SPF Chickens. **Acta Vet. Scand**, v. 46, p. 219-227, 2005.

KELEMEN, M. et al. Pathological and immunological study of an in ovo complex vaccine against infectious bursal disease. **Acta Vet Hung**, v. 48, p.443-454, 2000.

KHATRI, M. et al. Infection and activation of bursal macrophages by virulent infectious bursal disease virus. **Virus Res**, v. 113, p. 44-50, 2005.

KIBENGE, F. S. B.; DHILLON, A.S; RUSSEAL, R.G. Biochemistry and immunology of infectious bursal disease virus. **J. Gen. Virol.**, v. 69, p. 1757-1775, 1988.

KIM, I. 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 Disease**, v. 43, p. 401-413, 1999.

LI, L. et al. Oral DNA vaccination with the polyprotein gene of infectious bursal disease virus (IBDV) delivered by attenuated *Salmonella* elicits protective immune responses in chickens. **Vaccine**, v. 24, p. 5919-5927, 2006.

LUKERT, P. D.; SAIF, Y. M. Infectious bursal disease. **Diseases of Poultry**, 11^o Edição, ed Y. M Saif, Iowa State University Press, Ames, Iowa USA, 2003.

MALIK, M. W.; AYUB, N.; QURESHI, I Z. Passive immunization using purified IgYs against infectious bursal disease of chickens in Pakistan. **J. Vet. Sci**, v. 7, p. 43 – 46, 2006.

MORAES, H. L. S. et al. Infectious Bursal Disease: Evaluation of Maternal Immunity and Protection by Vaccination of One-Day Old Chicks Against Challenge with a Very Virulent Virus Isolate. **Brazilian J. Poultry Science**, v. 7, p. 51-57, 2005.

MORAES, H. L. S. et al. Infectious Bursal Disease: Evaluation of pathogenicity of commercial vaccines from Brazil in specific pathogen free chickens. **Brazilian J. Poultry Science**, v. 6, p. 243-247, 2004.

MULLER, H.; ISLAM, M. R.; RAUE, R. Research on infectious bursal disease-the past, the present and the future. **Vet Microbiology**, v.97, p. 153-165, 2003.

MULLER, R. et al. Immunofluorescent studies of early virus propagation after oral infection with infectious bursal disease virus. **Zentralbl. Veterinaermed. Méd. (B)**, v. 26, p. 345-352, 1979.

NAGARAJAN, M. M.; KIBENGE, F. S. B. Infectious Bursal Disease Virus: A review of molecular basis for variations in antigenicity and virulence. **J Vet Res**, v. 61, p. 81-88, 1995.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZZOOTIES (OIE). Infectious bursa disease, In: **Manual of diagnosis tests and vaccines for terrestrial animals**. OIE, Paris. Chapter 2.7.1, 2004.

PITCOVSKI, J. et al. Development and large-scale use of recombinant VP2 vaccine for the prevention of infectious bursal disease of chickens. **Vaccine**, v. 21, p. 4736-4743, 2003.

RAWTENSCHLEIN, S. et al. Protective Efficacy of Intermediate and Intermediate Plus Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) Vaccines Against Very Virulent IBDV in Commercial Broilers. **Avian Diseases**, v. 49, p. 231-237, 2005.

RAUTENSCHLEIN, S.; HAASE, C. Differences in the immunopathogenesis of infectious bursal disease virus (IBDV) following in ovo and post-hatch vaccination of chickens. **Vet. Immunol. and Immunop.**, v. 106, p. 139-150, 2005.

ROGEL, A. ET AL. Vaccination with *E. coli* recombinant empty viral particles of infectious bursal disease virus (IBDV) confer protection. **Virus Genes**, v. 27, p. 169–175, 2003

ROCHA, A. C. G. P. **Utilização de Inteligência Artificial para a Classificação de Patogenicidade de Amostras de *Escherichia coli* Isoladas de Frangos de Corte.** Porto Alegre: UFRGS, 2006. 115 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SALLE, C. T. P. et al. Correlation between aflatoxin and ocratoxin levels with production parameters in a poultry company. In: Western Poultry Disease Conference; 48. Vancouver - Canadá. **Resumos**; Vancouver: American Association of Avian Pathologists, (AAAP), p. 130, 1999a.

SALLE, C. T. P. et al. Use of statistical techniques on the interpretation of routine serological data produced by a poultry industry. In: Western Poultry Disease Conference; 48. Vancouver - Canadá. **Resumos**; Vancouver: American Association of Avian Pathologists (AAAP), p. 130, 1999b.

SALLE, C. T. P. et al. Estabelecimento de critérios de interpretação de resultados sorológicos de matrizes de corte através de modelos matemáticos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 1, p. 61-65, 1999c.

SALLE, C. T. P. et al. Uso de Redes Neurais Artificiais para Estimar Parâmetros de Produção de Galinhas Reprodutoras Pesadas em Recria. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.3, n.3, p. 257–264, 2001.

SALLE, C. T. P. et al. Use of artificial neural networks to estimate production variables of broilers breeders in the production phase. **British Poultry Science**, v. 44, n. 2, p. 211-217, 2003.

SALLE, C. T. P. et al. Immune response assessment in turkey breeders vaccinated against Newcastle disease using mathematical models. In: Western Poultry Disease Conference; 48. Vancouver - Canadá. **Resumos**; Vancouver: American Association of Avian Pathologists (AAAP), p. 130, 1999d.

SAPATS, S. I. et al. Chicken recombinant antibodies specific for very virulent infectious bursal disease virus. **Archives of Virology**, v. 151, p. 1551 – 1566, 2006.

SCHAT, K. A. Nuevas estrategias para la prevención y el control de enfermedades

inmunosupresoras. In: Congresso Latinoamericano de Avicultura, XX., 2007, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre - Brasil, 2007, p. 101-110.

SHARMA, J. M. ET AL. Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. **Dev. Comp. Immunol.**, v. 24, p. 223-235, 2000.

SHARMA, J. M. et al. Field trial in commercial broilers with a multivalent in ovo vaccine comprising a mixture of a live viral vaccines against Marek's disease, infectious bursal disease, Newcastle disease, and fowl pox. **Avian Disease**, v. 46, p. 613-622, 2002.

SHAW, I; DAVISON, T. F. Protection from IBDV-induced bursal damage by a recombinant fowlpox vaccine, fpIBD1, is dependent on the titre of challenge virus and chicken genotype. **Vaccine**, v. 18, p. 3230-3241, 2000.

TSUKAMOTO, K. et al. Protection of chickens against very virulent infectious bursal disease virus (IBDV) and Marek's disease virus (MDV) with a recombinant MDV expressing IBDV VP2. **Virology**, v.257, p. 352-362, 1999.

TSUKAMOTO, K. et al. Complete, long-lasting protection against lethal infectious bursal disease virus challenge by a single vaccination with an avian herpesvirus vector expressing VP2 antigens. **Journal Virology**, v. 76, p. 5637-5645, 2002.

VALENZUELA, P. et al. Synthesis and assembly of hepatitis B virus surface antigen particles in yeast. **Nature**, v.298, p. 347-350, 1982.

van den BERG, T. P.; MEULEMANS, G. Acute infectious bursal disease in Poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. **Avian Pathology**, v. 20, p. 409-421, 1991.

WYETH, P.J.; CHETTLE, N. J.; MOHEPAT, A. R. Use of an inactivated infectious bursal disease oil emulsion vaccine in commercial layer chicks. **Vet. Rec.** , v. 130, p. 30-32, 1992.