

Procedimentos de diagnóstico padrão para monitoramento pós-vacinação das vacinas Kemin: AIV, NDV, IBV

Dr. Ricardo Neto DVM, Regional Technical Service Manager, Kemin Biologics

INTRODUÇÃO E OBJETIVO

As ferramentas de diagnóstico são relevantes para compreender a dinâmica epidemiológica nas explorações agrícolas em todo o mundo, permitindo a detecção e vigilância dos agentes patogênicos que comprometem o bem-estar e a produtividade da população suscetível, com um impacto económico significativo.^{1,2}

Além disso, as ferramentas e procedimentos de diagnóstico também nos permitem monitorar eficazmente a aceitação da vacina nos animais imunizados, aumentando assim a confiança e a tranquilidade da equipe. O objetivo desta revisão técnica é descrever os procedimentos de diagnóstico padrão implementados no campo para permitir o monitoramento pós-vacinação das vacinas da Kemin que contêm o vírus da gripe aviária (AIV), o vírus da doença de Newcastle (NDV) e o vírus da bronquite infecciosa (IBV).

FUNDAMENTALS OF VACCINE MONITORING

a. Vacinação adequada

A aplicação, armazenamento e resposta corretos podem ser avaliados posteriormente graças às respostas que a vacina provoca nos animais. Essa resposta imunológica dependerá da vacina e dos testes disponíveis, bem como do antígeno que estamos avaliando, pois alguns antígenos poderão ser avaliados por testes específicos, enquanto outros não. Para obter orientações sobre boas práticas de vacinação (GVP), consulte os procedimentos específicos da Kemin aplicáveis à vacinação em incubatórios ou fazendas.

b. Coleta de amostras

É importante que as amostras de aves sejam corretamente identificadas no formulário de envio e individualmente no frasco de amostra, se for o caso. A identificação adequada da amostra deve incluir, no mínimo:

- Identificação e localização do lote
- Informações de contato do proprietário
- Número de aves no galpão
- Número de amostras
- Idade do lote
- Tipo de produção (poedeiras, matrizes, frangos de corte ou Perus)
- Genética
- Data da coleta da amostra
- Programa de vacinação
- Histórico do lote (problemas de saúde, surtos anteriores).

c. Testes laboratoriais

Os procedimentos disponíveis para monitorar a vacinação com vacinas virais para aves incluem:

- Testes moleculares: destinados a encontrar os antígenos ou evidências de sua presença.

- Testes sorológicos: Destinam-se a detectar anticorpos produzidos contra um antígeno específico. Os títulos sorológicos podem levar de 4 a 20 dias para serem detectados, evidenciando a resposta do animal ao contato com um determinado antígeno ou vacina. Para estudos sorológicos, as amostras devem ser amostras de sangue coletadas por uma pessoa qualificada (na maioria dos países, é uma exigência legal que isso seja feito por um médico veterinário).

d. Cronograma

- a. Matrizes: Podem ser coletadas 20 amostras de sangue entre 10 e 12 semanas de idade, no momento da transferência para o galpão de produção e, posteriormente, a cada 12 semanas.
- b. Poedeiras: Uma amostra de 20 amostras de sangue pode ser coletada antes da transferência para o galpão de produção, seguida por amostras coletadas a cada 12 semanas. Se as amostras estiverem sendo coletadas para avaliar a resposta à vacina, pode ser necessária uma amostragem mais frequente, como 3 semanas após a vacinação e, em seguida, a cada 4 semanas, durante todo o ciclo de produção do lote.
- c. Frangos de corte: uma amostra de 20 amostras de sangue pode ser coletada 2 ou 3 semanas após a vacinação, antes da transferência para a planta de processamento.

GRIPE AVIÁRIA

No que diz respeito à gripe aviária, os procedimentos de diagnóstico também nos ajudam a detectar infecções no campo (vigilância de patógenos) ou antígenos de vacinas (monitoramento de vacinas).

a. Vigilância (infecção em campo)

Para avaliar se um lote vacinado foi infectado, as aves sentinelas devem ser deixadas sem vacinação. Podem ser coletadas amostras de soro ou esfregaços (cloacais e traqueais) no caso de sinais clínicos que possam ser atribuídos ao vírus da gripe aviária (AIV). Neste contexto, é necessário o seguinte:

- Aves sentinelas (aves não vacinadas facilmente identificáveis).
- Esfregaços traqueais ou cloacais (ou tecidos) de animais doentes, se houver sinais clínicos no bando que possam ser suspeitos e atribuíveis à gripe aviária. Devem ser recolhidos pelo menos 15 esfregaços.
- Amostras de soro de aves sentinelas para avaliar se o bando vacinado foi infectado durante o ciclo de produção. Devem ser recolhidos pelo menos 15 esfregaços.

b. Monitoramento da vacina (adesão à vacinação)

Destinado a avaliar o nível de proteção concedido pela vacina e verificar se a vacinação foi realizada corretamente.

b.1) b.1) Amostragem: Para avaliar a aceitação da vacina, a vacinação correta e o estado de imunidade do rebanho (níveis de proteção em caso de desafio no campo), são utilizadas amostras de soro. Devem ser colhidas pelo menos 15 amostras de aves em diferentes áreas do galpão e pode ser necessário um número maior de amostras, dependendo do tamanho da população. Para o HI, a amostragem padrão ouro é realizada com antígeno específico para a vacina utilizada e fornecido pela Kemin, garantindo sempre que o antígeno utilizado no teste HI seja compatível com o antígeno da vacina. O ELISA específico para a gripe aviária também pode ser utilizado para avaliar se as aves foram corretamente vacinadas, mas não se as aves estão protegidas. Para avaliar se as aves foram devidamente vacinadas, tanto para o ELISA como para o HI, pelo menos 80% das aves devem ter

apresentado soroconversão (>80% de amostras positivas). Com o ELISA, apenas a conformidade da vacinação pode ser avaliada, e >80% dos animais devem ter apresentado soroconversão após a vacinação.

b.2) Cronograma: Para avaliar a eficácia e a proteção da vacinação, devemos coletar amostras das aves pelo menos três semanas após a vacinação, esperando que a soroconversão seja superior a 5 Log2 no HI. Para garantir que os níveis de proteção sejam mantidos ao longo do ciclo de produção, deve-se utilizar o teste HI e coletar amostras de soro aleatoriamente de diferentes aves em diferentes pontos do galpão. Devem ser coletadas pelo menos 15 amostras, mas pode ser necessário um número maior. O cronograma de amostragem varia de acordo com o ciclo de produção:

- Matrizes: com 35 e 45 semanas de idade.
- Poedeiras: com 35, 50, 60, 70, 80 e 90 semanas de idade.
- Frangos de corte: aos 21 dias de idade.

b.3) Limites: Os títulos recomendados para uma proteção adequada e as recomendações sobre a vacinação correta baseiam-se em evidências experimentais e de campo, conforme descrito no Manual de Testes Diagnósticos e Vacinas para Animais Terrestres da OIE (2012).¹ Um resumo da análise sorológica realizada com HI (padrão ouro) pode ser visto na tabela 1.

Método de teste	Amostra adequada	Tamanho da amostra	Cronograma de amostragem	Fatores críticos de sucesso
Sorologia (e.g. títulos de HI)	Soro	>15 (depende da população e do objetivo)	Pelo menos 3 semanas após a vacinação. Acompanhamento durante a produção. •Matrizes: com 35 e 45 semanas de idade. •Poedeiras: com 35, 50, 60, 70, 80 e 90 semanas de idade.	>80 % amostras positivas > 5 Log2 em HI utilizando antígeno específico fornecido pela Kemin

Tabela 1: Resumo da análise sorológica com HI para avaliar a conformidade e a proteção da vacinação

c. DIVA (diferenciação de animais infectados)

O RNA viral pode ser detectado por ensaios baseados em PCR (reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em gel (RT-PCR)). Através de testes regulares de PCR, é possível caracterizar fragmentos do genoma em vírus de campo, permitindo assim a diferenciação entre animais infectados e animais vacinados. Quando o material genético do vírus de campo está suficientemente disponível em amostras de sedimentos, o resultado positivo da PCR indicará claramente a presença do vírus de campo (resultado positivo). A diferença na sequência genômica indica, portanto, se o resultado da PCR se refere à cepa da vacina ou à cepa.³

DOENÇA DE NEWCASTLE

Para monitorar a eficácia da vacinação contra a doença de Newcastle (NDV), é possível avaliar a resposta do título de anticorpos (sorologia) considerada protetora. Ao contrário da gripe aviária, a demonstração da ausência de infecção natural não é importante, pois o vírus é onipresente e disseminado em todos os países produtores de aves. Para avaliar a resposta à vacina e a conformidade com a vacinação, podem ser utilizados testes ELISA e títulos de anticorpos de inibição da hemaglutinação (HI). Para ambos os métodos de teste sorológico, o conhecimento do histórico, das vacinas utilizadas e da epidemiologia regional é fundamental. Os testes mencionados abaixo para avaliação das práticas de vacinação são válidos tanto para vacinas vivas quanto inativadas contra o NDV.

I. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Para interpretar corretamente os resultados do ELISA, é necessário consultar as diretrizes específicas dos laboratórios que produzem os kits de teste ELISA, que descrevem de forma consistente o limiar esperado para cada tipo de vacina (viva ou inativada), distinguindo-a de uma infecção de campo. O laboratório parceiro que realiza o teste também costuma ter as diretrizes para interpretar os resultados.

II. Inibição da hemaglutinação (HI)

O antígeno da vacina deve ser utilizado para realizar o teste, e as amostras para avaliar a resposta à vacinação devem ser coletadas pelo menos 21 dias após a vacinação. O conhecimento dos genótipos e cepas locais do NDV também é importante para o HI. Para o teste HI, o título médio de anticorpos deve ser superior a $9 \log_2$ com o antígeno específico da vacina, e estes devem ter um título médio de anticorpos medido pelo HI, utilizando o antígeno específico da vacina de $9 \log_2$.

Um resumo dos testes sorológicos que podem ser realizados para monitorar os antígenos da vacina contra o NDV pode ser visto na tabela 2. As principais considerações incluem:

a. Amostragem

As amostras necessárias para os testes sorológicos são amostras de soro (amostras de sangue). 25 a 30 amostras devem ser suficientes para avaliar a proteção da vacinação e também a adesão à vacinação. Para demonstrar a soroconversão após a vacinação, podem ser coletadas e analisadas amostras emparelhadas com algumas semanas de intervalo.

	Método de teste	Amostra adequada	Tamanho da amostra	Cronograma de amostragem	Fatores críticos de sucesso
VIVA OU INATIVADA	1 Sorologia (e.g. títulos da ELISA IgG)	Soro	25-30 frangos	• Início da imunidade • Pico de postura • Após 60 semanas de idade	• Procedimento de amostragem • Linhas de base condicionadas a kits ELISA comerciais
	2 Sorologia (e.g. títulos da HI)	Soro	25-30 frangos	• Início da imunidade • Pico de postura • Após 60 semanas de idade	• >80% positivo • $9 \log_2$ titer

Tabela 2: Resumo da análise sorológica com HI para avaliar a conformidade e a proteção da vacinação

b. Cronograma

Os tempos de amostragem recomendados para avaliar o nível de imunidade conferido pela vacinação são:

- Matrizes: ao início de postura, pico de postura e 60 semanas de idade.
- Poedeiras: ao início de postura, pico de postura e 60 semanas e 90 semanas de idade.
- Frangos de corte: ao 21 dias de idade.

BRONQUITE INFECCIOSA

Para monitorar a vacinação adequada com a vacina contra o vírus da bronquite infecciosa (IBV), a sorologia pode ser considerada o método de teste padrão ouro. Usando esse método, deve-se coletar soro de pelo menos 25 aves. Assim como na doença de Newcastle, devido à circulação de diferentes cepas selvagens do IBV que podem resultar em resultados sorológicos cruzados em frangos vacinados, conhecer o histórico de vacinação, as variantes circulantes do IBV e o esquema de vigilância de patógenos é fundamental para equilibrar o diagnóstico. A soroconversão deve ser avaliada principalmente após a vacinação inativada, pois as vacinas vivas podem não levar a uma imunidade humoral forte.

a. ELISA test

Os kits ELISA comerciais são frequentemente utilizados para monitorizar as respostas de anticorpos séricos derivadas das vacinas contra o IBV. Os antígenos utilizados nos kits apresentam uma ampla reatividade cruzada entre serótipos e permitem a monitorização serológica geral das respostas vacinais e dos desafios no terreno.

b. HI test

Método utilizado para identificar respostas específicas ao sorotipo à vacinação e desafios de campo, especialmente em frangos jovens em crescimento. Devido à co-circulação de diferentes genótipos ou linhagens de IBV na mesma região, a soroconversão com títulos HI precisa ser analisada com cuidado e com o apoio do seu veterinário. A soroconversão à vacinação só pode ser monitorada se amostras emparelhadas forem coletadas com algumas semanas de intervalo e analisadas por um teste ELISA ou HI comercial adequado.

Se o teste sorológico escolhido for o HI, deve-se utilizar o antígeno específico da vacina. Por outro lado, se forem utilizados kits ELISA comerciais, o guia para interpretação dos resultados deve ser obtido diretamente junto ao fabricante do kit ELISA comercial, caso não esteja disponível no laboratório que realiza o teste.

Um resumo dos testes sorológicos que podem ser realizados para monitorar os antígenos da vacina contra o IBV pode ser visto na tabela 3. As principais considerações incluem:

c. Amostragem

As amostras necessárias para os testes sorológicos são amostras de soro (amostras de sangue). 25 a 30 amostras devem ser suficientes para avaliar a proteção da vacinação e a adesão à vacinação. Para demonstrar a soroconversão após a vacinação, podem ser coletadas e analisadas amostras emparelhadas com algumas semanas de intervalo.

d. Cronograma

Para a sorologia, devem ser coletadas amostras de sangue e, como antes, é importante lembrar que a coleta de amostras muito logo após a vacinação ou infecção pode levar a resultados negativos. Para avaliar se a soroconversão ocorreu devido à vacinação ou infecção em campo, deve-se realizar uma sorologia pareada para verificar se os títulos de anticorpos estão aumentando:

- Matrizes: ao início de postura, pico de postura e 60 semanas de idade.
- Poedeiras: ao início de postura, pico de postura e 60 semanas e 90 semanas de idade.
- Frangos de corte: ao 21 dias de idade.

Dado que o IBV não aglutina espontaneamente nos glóbulos vermelhos de galinha, as amostras precisam ser tratadas com a enzima neuraminidase antes de poderem ser utilizadas no teste HI.²

Para a sorologia, podem ser utilizadas amostras de sangue para avaliar a resposta dos anticorpos. Para isso, existem kits ELISA disponíveis no mercado, mas também pode ser utilizado o HI, que permite respostas específicas para cada serotipo e a avaliação da vacinação (isso pode ser difícil de fazer claramente no campo devido a múltiplas infecções de cepas vacinais e de campo). 19, 20

Embora a correlação com a proteção possa ser difícil em muitos casos, devemos esperar que um título médio de HI superior a 6,0 log₂ seja um limite protetor. Devido à complexidade das doenças respiratórias

e das condições que podem levar à redução da produção de ovos e à nefropatia, é necessário eliminar outras doenças ao diagnosticar a IB.

Os testes ELISA têm a vantagem de poderem detectar a resposta sorológica da ave contra todos os tipos de infecções por IBV, enquanto o HI é mais específico e permite encontrar respostas sorotípicas específicas se as aves forem expostas a serotipos específicos no campo ou por vacinação. Ao utilizar testes ELISA, é importante saber quais são os valores de corte para o teste utilizado, a fim de permitir uma interpretação adequada.

	Método de teste	Amostra adequada	Tamanho da amostra	Cronograma de amostragem	Fatores críticos de sucesso
VIVA OU INATIVADA	1 Sorologia (e.g. títulos da ELISA IgG)	Soro	25-30 frangos	• Sorologia emparelhada 3 semanas e 6 semanas após a vacinação	• Linhas de base condicionadas a kits ELISA comerciais • NA > 80% positivo
	2 Sorologia (e.g. títulos da HI) para antígenos da variante IB	Soro	25-30 frangos	• Sorologia emparelhada 3 semanas e 6 semanas após a vacinação	• 6 log ₂ • >80% positivo (deve ser interpretado com o consultor técnico da Kemin, pois as cepas em circulação podem ter impacto)

Tabela 3: Resumo dos testes sorológicos que podem ser realizados para avaliar a vacinação contra o IBV

CONCLUSÃO

A avaliação sistemática pós-vacinação permite que os veterinários especializados em aves determinem se o procedimento de vacinação foi realizado corretamente. Com vacinas virais, avaliar o número de aves que apresentaram soroconversão à vacinação pode estar associado à imunidade quando se conhece a correlação entre os títulos de anticorpos e a proteção. Conhecer os procedimentos diagnósticos padrão para monitorar as vacinas da Kemin é de suma importância porque i) verifica as "boas práticas de vacinação" para um determinado lote, ii) ajuda o produtor a compreender o status real da vacinação na granja e iv) auxilia os veterinários no processo de tomada de decisão ao atualizar os programas de vacinação.

Referências

1. OIE. 2012. Avian influenza. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. OIE, Paris, France
2. D.J. Alexander, C.D. Bracewell & R.E. Gough (1976) Preliminary evaluation of the haemagglutination and haemagglutination inhibition tests for avian infectious bronchitis virus, Avian Pathology, 5:2, 125-134, DOI: 10.1080/03079457608418177
3. Azeem and Yoon (2025). Viruses. 2025 Feb 6;17(2):228. doi: 10.3390/v17020228.

For further information please contact us:

kemin.biologics@kemin.com

or visit:

kemin.com/eu/en/markets/vaccines



Kemin Industries, Inc. and its group of companies. All rights reserved. ®™ Trademarks of or licensed by Kemin Industries, Inc., U.S.A. Certain statements, product labelling and claims may differ by geography or as required by local governmental regulations. Always use the product according to the SPC locally approved and following the advice from the prescribing veterinarian.

TL-15128

RESILIÊNCIA
IMUNOLÓGICA

