

Avicultura

INDUSTRIAL.COM.BR

Nº 02|2019 | ANO 110 | Edição 1285 | R\$ 26,00



Qualidade microbiológica e sensorial na pasteurização de ovos

Com maior espaço no mercado, os
parâmetros de qualidade no processo
e no produto final passam a ser
mais rigorosos



SOUTH AMERICA

23 a 25 de Julho de 2019

MEDIANEIRA • PR

O QUE HÁ DE NOVO NAS VACINAS?

A utilização de vacinas na avicultura é tradicionalmente destinada a evitar ou minimizar o aparecimento da doença clínica nas produções, para assim, aumentar o desempenho zootécnico. A prevenção de doenças, através da utilização de vacinas, é sem dúvida o melhor método para combater doenças

Por | Wagner Loyola¹, Francisco Noé Fonseca² e Ana Paula Bastos³

Desde o século 19, a prevenção de doenças é um desafio para a humanidade. No ano de 1789, o médico inglês Edward Jenner iniciou os estudos sobre a prevenção de doenças. Tais estudos foram a base para o trabalho do pesquisador francês Louis Pasteur. Este pesquisador desenvolveu a primeira vacina utilizada em aves, para combater doença provocada pela bactéria *Pasteurella multocida*.

O termo imunização se refere à indução de imunidade frente a um determinado agente ou antígeno. A imunidade ativa pode resultar tanto da exposição ao patógeno por infecção natural quanto da administração da vacina específica. Como resultado, o sistema imunológico do hospedeiro é estimulado pelo antígeno ao qual foi exposto. Portanto, o objetivo principal da vacinação é preparar o sistema imune para responder mais rápida e eficazmente contra um determinado patógeno, além de induzir uma memória imunológica de longa duração. Na realidade, as vacinas não protegem contra a infecção, mas contra a doença, por dar ao sistema imune uma vantagem contra o patógeno invasor. A utilização de vacinas na avicultura é tradicionalmente destinada a evitar ou minimizar o aparecimento da doença clínica nas produções, para assim, aumentar o desempenho zootécnico. A prevenção de doenças, através da utilização de vacinas, é sem dúvida o melhor método para combater doenças. Vacinas e programas de vacinação variam muito, dependendo de vários fatores locais (como tipo de produção, nível de biossegurança, padrão local da doença, status da imunidade materna, vacinas disponíveis, custos e perdas potenciais). A vacinação aliada às medidas de biossegurança na avicultura implicará na redução do uso de antibióticos (promotores de crescimento), reduzindo o risco de resíduos na carne. Além disso, os animais não

sofrerão o risco de ter seu desempenho produtivo comprometido com as doenças para as quais foram imunizados. Tradicionalmente, as vacinas têm sido produzidas com patógenos atenuados ou inativados. No entanto, muito tem se propagado sobre efeitos adversos das vacinas. Talvez este fato associado aos modernos meios de informação tenha levado ao aumento no nível de desconfiança na utilização de vacinas. De fato, nos últimos anos, com o movimento antivacina e com a enorme propagação de notícias sensacionalistas e sem base científica, indivíduos desinformados foram conduzidos a abandonar a utilização da imunização. A magnitude e duração da resposta imunológica da vacinação dependem de fatores do hospedeiro, como a presença de anticorpos adquiridos passivamente, idade e imunocompetência; e de vários fatores da vacina, entre os quais consta o uso e o tipo de adjuvante.

O termo adjuvante originou-se da palavra latina *adjuvare*, que significa ajudar. Teoricamente, adjuvantes são cada molécula ou substância capaz de amplificar ou intensificar a ação de ativação do sistema imunológico que compõem a resposta imune. Esta ação é muito semelhante à função de alto-falante que amplifica o volume de sons, facilitando a percepção. Este processo de amplificação da resposta imune tem, em alguns casos, sido chamado por alguns pesquisadores como ação irritante do local de inoculação da vacina, podendo, em determinadas situações, causar a formação de inflamação intensa. Desta forma, espera-se que um adjuvante apresente um papel quantitativo, sendo capaz de promover uma elevada e prolongada resposta imune e de induzir uma resposta biologicamente ativa através da modulação do sistema imune, além de direcionar essa resposta imune para uma resposta protetora, evitando a doença.





Os adjuvantes têm sido usados em vacinas convencionais para estimularem uma resposta imune precoce, elevada e duradoura. Para exercerem um efeito adequado, devem promover um estímulo antigênico para todos os componentes da vacina que não induzem uma imunidade desejável, influenciando ou controlando muitos parâmetros da resposta imune, tais como: (1) produção de anticorpos (especificidade, títulos, duração, memória, classe, isotipos, avides); (2) imunidade mediada por células (CMI) - CMI mediada por CD4+ ou resposta de hipersensibilidade tardia (DTH) e CMI mediada por CD8+ (CTL); (3) imunidade mucosa e (4) incidência de não-respondedores genéticos. Às diferentes características da resposta imune, apropriada ao objetivo de cada vacina, seja para prevenção ou terapia, seja contra patógeno circulante ou intracelular, implicam na impossibilidade do estabelecimento de um adjuvante universal e apropriado para todos os casos. Alguns fatores, como a natureza do antígeno, a dose e os adjuvantes podem influenciar profundamente a magnitude e duração da resposta imune dirigida pela vacinação. A imunidade para diferentes doenças infecciosas requer tipos distintos de reações imunes, as quais devem ser evocadas por diferentes formulações de vacinas. Dependendo do tipo de doença, a vacina deve superar um número crítico de

demandas, que incluem iniciação precoce da imunidade, longa duração da resposta efetora, tais como produção de anticorpos ou atividade citotóxica, a diminuição do requerimento de reforços, certa qualidade da resposta imune, além de custos reduzidos e aceitáveis e boa segurança. Muitos desses aspectos são fortemente dependentes da escolha do adjuvante. Uma vez que os adjuvantes podem estimular a produção de citocinas e quimiocinas pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), podem recrutar células dos tecidos e direcionar para o desenvolvimento de uma resposta humoral ou mediada por células.

Desde 1925, sabe-se que é possível aumentar artificialmente os níveis das antitoxinas tetânica e diftérica pela adição à vacina de substâncias como o ágar, sais metálicos, óleo, lecitina ou saponina. Atualmente, os adjuvantes têm recebido grande atenção devido à nova geração de vacinas desenvolvidas com subunidades bastante purificadas e sintéticas, que são mais seguras, porém menos imunogênicas, e à sua capacidade de modular seletivamente a resposta imune humoral e/ou celular.

O avanço no estudo do sistema imune tem demonstrado a presença de receptores na superfície de células da resposta imune inata. Estas células estão ativas durante toda a vida do animal e tem ação imediata na defesa do organismo



contra qualquer tipo de agressão. Diferente das células que são ativadas pela vacina, a resposta imune inata ataca qualquer corpo estranho. Para isso, utiliza um grupo de receptores chamados de "receptores de reconhecimento padrão" (PRR, sigla em inglês).

Os PRRs podem se ligar a vários tipos de moléculas, tais como saponinas, lecitinas, frações de parede celular de microrganismo ou fungos. A ligação entre receptores e seus respectivos ligantes leva a uma sinalização entre células imunológicas e aumento na capacidade microbicida. O aumento na capacidade de eliminar agentes patogênicos é muito desejável, principalmente em animais de ciclo de vida curto, tais como o frango.

O conhecimento da função dos PRRs e seus ligantes pode levar a novas gerações de adjuvantes. Dentro do grupo moderno de vacinas, temos o desenvolvimento de produtos com estruturas subcelulares e podemos dividi-las em vacinas profiláticas e terapêuticas. E os efeitos adversos podem ser tolerados em vacinas terapêuticas, ao contrário das profiláticas. Para tanto, novos adjuvantes são necessários. Alguns adjuvantes como saponinas - extraídas de vegetais tais como ginseng e soja -, já podem ser encontradas no mercado. Estas substâncias se ligam a receptores chamados receptores semelhantes a Toll (TLR, sigla em inglês). Estudos demonstram que a ligação de saponina extraída de ginseng com TLR4 leva a ativação de células da resposta inata tais como macrófagos, que aumentam a expressão em sua superfície da molécula de apresentação de antígeno exógeno (MHC classe II), com consequente aumento na ativação do sistema imune. Além desta ação, ocorre um aumento na capacidade de macrófagos em matar microrganismo e também em recrutar novas células de defesa para o local de infecção.

Estudos utilizando a lectina ArtinM, extraída da semente de *Artocarpus integrifolia*, demonstraram que esta proteína pode se ligar ao receptor Dectina-1, presente na membrana plasmática de macrófagos. Este tipo de ligação aumentou a capacidade de macrófagos na sua atividade tanto microbicida como também na apresentação de antígenos, levando a uma forte ativação do sistema imune. Porém, esta ativação foi controlada, sem a exacerbação dos efeitos colaterais. Tais habilidades demonstram que tal lectina poderia ser utilizada como adjuvante.

Os PRRs presente na superfície de células do sistema imune inato (macrófagos) se comunicam com o núcleo das células por meio de vias citoplasmáticas de sinalização,

tais como NF- κ B ou MyD-88. Estas vias são como rodovias que podem levar a diferentes destinos. A compreensão das funções destas vias e seus destinos pode levar a uma ativação do sistema imune, sem os efeitos adversos observados nas vacinas atuais.

Outros ligantes muito estudados são os carboidratos manose e betaglucanas, substâncias presentes na parede celular de leveduras. Muitos fungos utilizados na indústria podem gerar grandes quantidades destas substâncias a um custo muito baixo. Estes açúcares se ligam a dois tipos de receptores, que são os receptores de Manose e Dectina, receptores que compõem a grande família dos PRRs. Esta ligação leva a ativação de células da resposta imune inata, que em consequência produzem quimiocinas e citocinas, que promovem a ativação e recrutamento de novas células de defesa.

Nos últimos anos tem se discutido a classificação dos adjuvantes, por classe de ativação ou pelos produtos produzidos, pelas células imunes durante a sua utilização. A existência de muitas moléculas com propriedades adjuvantes e a heterogeneidade dos efeitos biológicos dessas substâncias dificultam a classificação e a divisão em grupos distintos que tornariam mais fácil a seleção do adjuvante apropriado a ser usado de acordo com a finalidade desejada. Várias propostas de classificação têm sido sugeridas por diferentes autores, mas a que tem se utilizado nos últimos anos é a classificação de acordo com a capacidade de o adjuvante estimular imunidade do tipo Th1 ou do tipo Th2.

Os estudos para obtenção de novos adjuvantes são fundamentais, uma vez que eles desempenham um papel crucial na determinação da magnitude e direção da resposta imune pelos mecanismos, incluindo aumento da apresentação do antígeno, captação, distribuição e seletividade do alvo. De fato, os adjuvantes para vacinas humanas e para animais diferem um pouco, justamente para diminuir os efeitos adversos que possam resultar pela utilização de imunizações. Além disso, a obtenção de novos adjuvantes é estimulada por um grande número de fatores, incluindo a fraca imunogenicidade dos antígenos puros e das vacinas de DNA, resposta imune geralmente baixa em certa faixa etária, como também um melhor conhecimento dos mecanismos da resposta imune e das novas rotas de liberação que têm sido exploradas, tais como a mucosa. Alguns parâmetros devem ser avaliados para a escolha de novos adjuvantes e combinação adjuvantes/vacinas, tais como a qualidade, o

mecanismo de ação e a compatibilidade do adjuvante com o antígeno, incluindo composição quantitativa e qualitativa, características físicas e bioquímicas, pureza química e microbiológica.

Dependendo da via de administração da vacina, o tipo de adjuvante utilizado muda, tais como a inoculação intramuscular de vacinas, que seriam inoculadas no tecido subcutâneo, podendo levar a formação de abscessos. Este processo pode ser visto com frequência em bovinos, resultado da inoculação de vacinas como a contra aftosa. Porém, a diminuição de efeitos adversos é a principal preocupação. Nos últimos anos, o Brasil enfrentou a rejeição de carne bovina pelo mercado estrangeiro, pois o produto apresentava lesões que claramente mostrava a influência dos adjuvantes.

Neste sentido, alguns problemas podem ser citados durante o processo de obtenção de adjuvantes para vacinas, tal como adjuvanticidade limitada. A adjuvanticidade limitada ocorre pelo fato de alguns adjuvantes serem efetivos para determinados antígenos e ineficazes para outros. Um dos maiores obstáculos para o desenvolvimento de novos adjuvantes é a toxicidade, que tem restringido a liberação e o uso de novos adjuvantes. Atualmente, o balanço entre segurança e efeitos adversos é avaliado diferentemente para uma vacina profilática e para uma vacina terapêutica. No primeiro caso, apenas os adjuvantes que induzem efeitos adversos mínimos são aceitos, já para o uso terapêutico, são aceitos níveis de efeitos adversos mais elevados.

No último século, o uso de vacinas tem diminuído consideravelmente a mortalidade e a morbidade causadas por doenças infecciosas na avicultura. A prática da vacinação é uma das intervenções profiláticas mais eficazes. As vacinas tradicionais são heterogêneas e contêm muitos epítomos, alguns dos quais ativam as células Th's ou funcionam como adjuvantes. Rápidos avanços na imunologia, na biologia molecular e na bioquímica têm direcionado para o desenvolvimento de vacinas de subunidades baseadas em recombinantes bacterianos ou virais, peptídeos ou plasmídeos. No entanto, o aumento de bactérias resistentes a antibióticos, a emergência de novos patógenos e a segurança de vacinas atenuadas ou de patógenos mortos têm exigido novas vacinas e o refinamento das vacinas existentes para torná-las mais seguras e mais efetivas. Uma ferramenta fundamental, como mencionado, para reforçar e intervir na resposta imune adaptativa contra antígenos vacinais é o uso de adjuvantes na formulação vacinal, sendo que diversas formulações apresentaram um forte potencial adjuvante, tais como as emulsões, lipossomos, microesferas, saponinas, complexos imunoestimulantes (ISCOMs), dentro os quais vêm se destacando o uso de sistemas de transporte de partículas mediadas por nanopartículas e nanocápsulas.

Na imunização ou vacinação de mucosa, a fim de melhorar a eficácia dessas vacinas, os sistemas de entrega mediados por partículas podem ser empregados. O sistema de nanopartículas ideal para vacinação deve ser capaz de atingir a região da mucosa, permitindo sua interação com as células de interesse e proporcionar proteção contra o antígeno da vacina. Esse direcionamento é conseguido através da via de administração adequada e a incorporação de componentes alvos do sistema de transporte das nanopartículas

Ao instalar a **Unium** na sua granja, você terá uma ferramenta de análise de dados que auxiliará nas tomadas de decisão em:

- ▶ ALIMENTAÇÃO
- ▶ PESO
- ▶ ÁGUA
- ▶ TEMPERATURA

Unium.
Eficiência e praticidade na gestão da sua granja.

Acesse



inoBram[®]
AUTOMAÇÕES

Soluções completas para sua granja.

| www.inobram.com.br

nas células da mucosa. A forma e tamanho das partículas podem ser manipulados para maximizar a interação ao nível celular. Células fagocitárias, como macrófagos e células M, são capazes de ingerir micropartículas, e, por conseguinte, estas células no trato intestinal ou respiratório permitem o uso de partículas maiores. Entretanto, para que haja endocitose pelas células epiteliais, o tamanho das partículas deve ser menor, sendo a faixa nanométrica interessante para tal. Além disso, utilização de sistemas de entrega de partículas que são compatíveis com a via de administração e tipo específico de antígeno confere maior proteção a este.

Nas últimas décadas, a nanotecnologia aplicada à terapêutica oportunizou por meio de nanocarreadores (coloides com diâmetro médio de 100-200 nm) a administração de diversos agentes terapêuticos com limitações biofarmacêuticas (baixa solubilidade, alta instabilidade nos fluidos corporais, labilidade química), bem como tem possibilitado a permeação destes através de barreiras biológicas ou vetorização para sítios específicos. A escolha do tipo de carreador e dos componentes para sua composição vai depender da natureza química do composto a ser incorporado, da via de administração e do tempo de tratamento. Esses sistemas coloidais são classificados de acordo com a sua composição química e supraestrutura, tais como os sistemas lipídicos (lipossomas, nanoemulsões, carreadores lipídicos sólidos) e os poliméricos (micelas, nanoesferas, nanocápsulas).

Geralmente, as partículas devem ser produzidas a partir de materiais não reativos, biocompatível e disponível em pureza de grau farmacêutico. A vacina será lançada no corpo através da degradação da partícula, erosão, inchaço, ou difusão para fora da matriz. Como tal, é essencial que o material das partículas e os seus produtos de degradação sejam biocompatíveis. Entre os compostos já incorporados em formulações nanoestruturadas, têm-se anti-inflamatórios, psicofármacos, antineoplásicos, peptídeos (proteínas, enzimas, anticorpos), material genético, entre outros.

A investigação do potencial dos lipossomas como sistema carreador vacinal tem atraído atenção, já que sua preparação e benefícios terapêuticos são conhecidos para fármacos com sérios problemas farmacocinéticos e toxicológicos (doxurubicina, paclitaxel e anfotericina B). Os lipossomas têm sido propostos como veículos de liberação de antígenos em razão de sua utilidade como adjuvante imunológico, apresentando vantagens como sua

fácil preparação, baixa toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, assim como a liberação lenta de antígenos encapsulados. Uma estratégia para aumentar o efeito da vacina é liberar especificamente o antígeno no órgão alvo. A conjugação de proteínas virais na membrana de lipossomas (virossomas) oferece a oportunidade para explorar o direcionamento e propriedades fusogênicas de membranas de proteínas virais. Esta propriedade dribla o inconveniente da degradação pelos lisossomas antes de alcançarem o citoplasma, pois os virossomas são usados como o próprio vírus, introduzindo o material dentro do citoplasma. Outra vantagem dos virossomas é o ganho do tropismo do tecido pela proteína viral. Alguns vírus são direcionados para células ou tecidos específicos.

Nesse contexto, diversas vacinas de caráter lipossomal têm sido desenvolvidas, avaliadas e comercializadas, merecendo destaque os virossomas. Estes possuem em sua estrutura componentes estruturais de envelopes virais, em especial hemaglutinina e neuranimidase. Tais componentes desempenham papel antigênico promovendo a imunidade humoral e celular, como também favorecem a vetorização ativa para APCs devido a sua ligação com os resíduos de ácido siálico presentes na superfície destas células. A ação do virossoma é mediada por receptores para macrófagos, sendo que atua como um transportador de antígenos para células B e T, eliminando a necessidade de uma proteína transportadora, garantido uma eficiente apresentação de antígeno e prolongando a meia-vida do antígeno. Diversos vírus são utilizados como fonte dessas matérias-primas e nesse sentido o nosso grupo de imunologia e nanotecnologia da Embrapa Suínos e Aves está concluindo o desenvolvimento de um virossoma contra o vírus da doença de New Castle, bem como outro contra um vírus de interesse da cadeia suinícola.

Os nanocarreadores são considerados adjuvantes de sistema de entrega. Adjuvantes imunopotenciadores de mucosa também podem ser incorporados em sistemas de nanoentrega para melhorar uma resposta imunológica específica, ou atuando como o próprio sistema transportador. Os adjuvantes que, simultaneamente, atuam como sistemas de entrega e imunopotenciadores têm a vantagem adicional de aumentar a resposta imune e ao mesmo tempo melhorar a entrega à mucosa.

Virus Like Particle (VLP, sigla em inglês) são nanoestruturas compactas e altamente ordenadas que mimetizam genuinamente os vírus em termos de tamanho

(22-150 nm) e composição do envelope, mas sem material genético viral. Devido à sua aparência semelhante ao vírus e especialmente a sua estrutura de superfície repetitiva, as VLP apresentam elevada imunogenicidade e antigenicidade específica, podendo interagir com o sistema imune através de vias semelhantes a dos agentes patogênicos originais. Desta maneira, cada vez mais VLP foram estudados ao longo das últimas décadas, desde a sua utilização como vacina homóloga, seu potencial como uma nova plataforma de vacina versátil transportando antígenos heterólogos de carga útil, que são, assim, protegidos da degradação.

A caracterização da VLP purificada é crucial para a liberação do produto, como a vacina, e para controlar o processo de produção. Inclui o conteúdo bioquímico (teor de proteína específica e total; impurezas como ácidos nucleicos e endotoxinas), bem como as suas propriedades físicas (tamanho de partícula, homogeneidade e densidade). Em especial para o VLP envelopado derivado de sistemas de expressão complexos, de proteínas contaminantes de células hospedeiras e modificações dependentes das células hospedeiras ainda limitam o uso de VLP.

CONCLUSÃO

A compreensão dos mecanismos de ativação da resposta imunológica avançou muito nas últimas décadas. Metodologias moleculares, citometria de fluxo e outras estratégias têm auxiliado na compreensão da comunicação entre as respostas imunes inatas e adaptativas. Os linfócitos que compõem a resposta adaptativa são os responsáveis pela memória imunológica. Esta capacidade protege os animais por longos períodos. Porém, as células da resposta imune inata possuem a maioria dos mecanismos microbicidas e tumorocidas.

Estudos demonstram que a resposta imune inata e adaptativa forma um "continuum". *Continuum* representa uma série de acontecimentos sequenciais e ininterruptos, fazendo com que haja uma continuidade entre o ponto inicial e o final. Com isso, podemos dizer que diferente dos antigos adjuvantes que serviam basicamente com um depósito de antígeno, liberando aos poucos no organismo do vertebrado. Os novos adjuvantes, independentemente da forma como sejam classificados, devem efetuar uma ativação da comunicação entre a resposta inata e adaptativa. Esta comunicação deve ser controlada, evitando com isso os efeitos indesejáveis, tais como a formação de granulomas.

Esta nova geração de adjuvantes pode ainda servir como uma alternativa para o tratamento de algumas doenças. Como mencionado anteriormente, alguns animais possuem ciclo de vida muito curto e, ativação precoce de mecanismos microbicidas poderia proteger os vertebrados contra agentes patogênicos, sem a necessidade da ativação de linfócitos. A ativação da resposta adaptativa leva a grandes gastos energéticos e de nutrientes, que são necessários para os animais de produção. ●

¹Biomédico, Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, e-mail: wagner.loyola@embrapa.br

²Farmacêutico, Analista da Embrapa Suínos e Aves, e-mail: francisco.fonseca@embrapa.br

³Médica Veterinária, Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, e-mail: ana.bastos@embrapa.br

As Referências Bibliográficas deste artigo podem ser obtidas no site da Avicultura Industrial por meio do link: www.aviculturaindustrial.com.br/adjuvante1285

Plasuze Plásticos
Sua solução para transporte de frango

Gaiola para transporte de frango vivo 100L

Ref.: UZE0200

- Guia para tubos no fundo;
- Portinhola com duplo travamento;
- Quatro travas nas laterais maiores;
- Reforço no fundo, testeiiras e laterais;
- Três alças nas testeiiras e nas laterais;
- Vão central para maior rapidez na abertura;
- Interior da caixa 100% raiada, com diâmetro reduzido de furos que evitam ferimentos e amputação de unhas.

Qualidade Plasuze

570 205 205 770

Vendas
(83) 99633-9717
comercial@plasuze.com.br
www.plasuze.com.br

