



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA AGROPECUÁRIA

ISABEL MAIER

SOROEPIDEMIOLOGIA PARA O VÍRUS DA BRONQUITE
INFECCIOSA DAS GALINHAS NO MUNICÍPIO DE CONCEIÇÃO DA
FEIRA, BAHIA - BRASIL

Cruz das Almas – Bahia

2016

ISABEL MAIER

**SOROEPIDEMIOLOGIA PARA O VÍRUS DA BRONQUITE
INFECCIOSA DAS GALINHAS NO MUNICÍPIO DE CONCEIÇÃO DA
FEIRA, BAHIA - BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do curso de Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em defesa agropecuária.

Orientador: Profa. Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante

Co-orientador: Profa. Dra Lia Muniz Barreto Fernandes

Cruz das Almas – Bahia

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

M217s

Maier, Isabel.

Soroepidemiologia para o vírus da bronquite infecciosa das galinhas no município de Conceição da Feira, Bahia, Brasil / Isabel Maier._ Cruz das Almas, BA, 2016.

79f.; il.

Orientadora: Ana Karina da Silva Cavalcante.

Coorientadora: Lia Muniz Barreto Fernandes.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.


1.Galinha – Bronquite infecciosa aviária. 2.Galinha – Estudos soropidemiológicos. 3.Vacinação – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 636.5

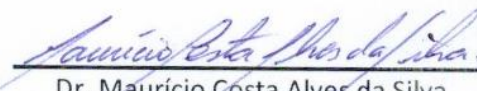
Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária

Ata da Defesa de **Isabel Maier** aluna do Programa de Pós-Graduação do Curso de Mestrado em Defesa Agropecuária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

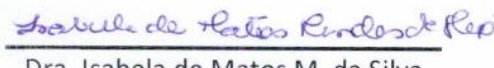
Aos vinte e oito dias do mês de março de 2016, nas dependências da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em sessão pública, reuniu-se a Comissão Examinadora constituída pelos Professores: Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante – UFRB, Dr. Maurício Costa Alves da Silva – UFBA e Dra. Isabela de Matos Mendes da Silva – UFRB, para examinar e julgar a Dissertação intitulada: **“SOROEPIDEMIOLOGIA PARA O VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS DO MUNICÍPIO DE CONCEIÇÃO DA FEIRA, BAHIA - BRASIL”** de autoria da aluna regular, **Isabel Maier**, do Programa de Pós-Graduação em Defesa Agropecuária, Curso de Mestrado Profissional. Os trabalhos foram iniciados às 14 horas pela Professora Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante, presidente da banca, e depois de encerradas a apresentação e arguição às 17 horas, os examinadores reuniram-se para avaliação do trabalho tendo a mesma sido APROVADA, de acordo com os pareceres emitidos por cada membro da banca, que serão anexados a presente Ata. Proclamados os resultados pelo presidente da banca, foi encerrada a sessão, da qual é lavrada a presente Ata, que após lida e aprovada é assinada pelos componentes da Banca Examinadora, pela mestranda, pela Coordenadora do Programa e por todos os presentes. Cruz das Almas, 28 de março de 2016.



Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante
Presidente



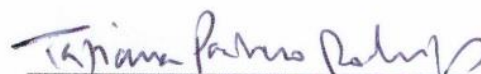
Dr. Maurício Costa Alves da Silva
Membro da Banca



Dra. Isabela de Matos M. da Silva
Membro da Banca



Isabel Maier
Mestranda



Tatiana Pacheco Rodrigues
Coordenadora

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho, em especial:

À Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB), pelo apoio estrutural e financeiro

Ao Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia (LASAB), pela análise das amostras

À Associação Baiana de Avicultura (ABA), pela doação dos *kit's* de ELISA

Às empresas e produtores particulares, pela participação na pesquisa

À Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante, pelo carinho, amizade e dedicação dispensados na orientação deste trabalho

À Dra. Lia Muniz Barreto Fernandes, sempre de braços abertos para contribuir

A Itamar Garrido de Souza Pinto, pelo apoio na solicitação dos materiais necessários à realização do trabalho

À Isabella Ramos, pelo processamento das amostras no laboratório

À Adriana Batista Mattos, Manoela Barbosa Batista, e Lucyla Maia de Albuquerque Mariz Flor, amigas e companheiras do dia-a-dia, pela contribuição na colheita das amostras e incentivo, sempre!

A Iranildo Santana Lopes, companheiro nas viagens, pelo auxílio na colheita de amostras

OBRIGADA!

RESUMO

A atividade avícola no município de Conceição da Feira é de grande importância para o Estado da Bahia. A ocorrência de enfermidades respiratórias é um dos principais problemas da avicultura industrial, sendo a bronquite infecciosa das galinhas considerada a de maior frequência, acarretando importantes prejuízos econômicos. Apesar do controle dessa doença ser realizado através de programas de vacinação e medidas de biossegurança, surtos são relatados. Este trabalho teve como objetivo mensurar, através da técnica de ELISA indireto, os títulos de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas e comparar com os protocolos vacinais utilizados, verificar se há evidência de circulação viral na região e se os problemas respiratórios que ocorrem podem ser atribuídos a esta enfermidade. Durante o período de agosto de 2014 a abril de 2015 foram colhidas 2420 amostras de soro sanguíneo em frangos de corte nas idades de 14 e 40 dias, em 55 propriedades no município de Conceição da Feira, Bahia. Foram detectados títulos de anticorpos com valores extremos, variando de 1 a 5935 e elevado coeficiente de variação (CV=152,1% aos 14 dias e 185,1% aos 40 dias), porém os baixos valores de média geométrica dos títulos não sugeriram circulação de vírus durante o período do estudo. O alto CV demonstrou não uniformidade da resposta vacinal, bem como foi observada baixa soroconversão entre as coletas, mesmo com a utilização de duas doses de reforço a campo. Sintomatologia respiratória foi observada em 30,9% das aves, sendo a mortalidade elevada verificada em 78,18% das propriedades. O presente estudo demonstra que, apesar de variados esquemas vacinais empregados pelas empresas e produtores particulares, a resposta humoral não alcançou títulos adequados de anticorpos. Observou-se que sintomatologia respiratória e mortalidade fora dos padrões considerados aceitáveis sugerem que outras enfermidades podem estar circulando na região ou ainda falhas de biossegurança estejam ocorrendo e devem ser investigadas.

Palavras chave: Enfermidade respiratória, ELISA, *Coronavirus* aviário tipo 3.

ABSTRACT

The poultry activity in Conceição da Feira City is of great importance for the state of Bahia. The occurrence of respiratory diseases is one of the main problems of the poultry industry, and the infectious bronchitis is considered the most often, causing significant economic losses. Despite the control of this disease is carried out through vaccination programs and biosecurity measures, outbreaks are reported. This study aimed to measure by indirect ELISA, the antibody titers against the virus of infectious bronchitis and compare with the used vaccination protocols, check for evidence of virus circulation in the region and the respiratory problems that occur they can be attributed to this disease. During the period from August 2014 to April 2015 were collected 2420 samples of blood serum in broilers at the ages of 14 and 40 days in 55 properties in the Conceição da Feira City. Antibody titers were detected with values ranging from 1 to 5935 and high coefficient of variation (CV = 152.1% at 14 days and 185.1% at 40 days), but the low geometric mean titer values suggested no virus circulation during the study period. The high CV showed no uniformity of vaccine response and low seroconversion was observed between collections, even with the use of two booster doses of the field. Respiratory symptomatology was observed in 30.9% of the birds, and the high mortality observed in 78.18% of properties. This study shows that although various vaccination schedules used by companies and private producers, the humoral response did not achieve adequate antibody titers. It was observed that respiratory symptoms and mortality outside the standards acceptable to suggest that other illnesses may be circulating in the region or biosecurity failures are occurring and should be investigated.

Key words: Respiratory illness, ELISA, avian *Coronavirus* type 3.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Micrografia eletrônica de partículas do vírus da BIG.....	21
Figura 2 – Esquema contendo a organização estrutural do vírus da bronquite infecciosa. São destacadas as proteínas estruturais: S, glicoproteína de superfície; N, proteína fosforilada de nucleocapsídeo, e a M, glicoproteína de membrana.....	23
Figura 3 – Esquema representativo do genoma completo do vírus da bronquite infecciosa.....	24

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela I – Distribuição do número de propriedades, aves alojadas e amostras por empresas integradoras e produtores independentes	62
Tabela II – Protocolo de vacinação das aves por empresa integradora e produtores independentes no município de Conceição da Feira	62
Tabela III – Títulos sorológicos para BIG em frangos de corte aos 14 dias, pelo método de ELISA indireto, com diferentes protocolos de vacinação adotados no município de Conceição da Feira	62
Tabela IV – Títulos sorológicos para BIG em frangos de corte aos 40 dias, pelo método de ELISA indireto, com diferentes protocolos de vacinação adotados no município de Conceição da Feira	63

LISTA DE ABREVIATURAS

- AGPT – Teste de Precipitação em Ágar-Gel (*Agar-Gel Precipitation Test*)
- BIG – Bronquite Infecciosa das Galinhas
- C-ELISA – ELISA de captura (*capture ELISA*)
- CC – Cultura de Células (*Cell Culture*)
- CIAV – Vírus da anemia infecciosa das aves (*Chicken Infectious Anaemia Virus*)
- CIS – Estudo de Imunização Cruzada (*Cross-Immunization Study*)
- CIT – Teste de Imunidade Cruzada (*Cross-Immunization Test*)
- cRNA – RNA complementar
- CTL – Células T citotóxicas
- CV – Coeficiente de Variação
- DcoV – *Coronavirus* dos Patos (*Duck Coronavirus*)
- E – Proteína do envelope
- ELISA – Ensaio Imunoenzimático (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)
- EUA – Estados Unidos da América
- GcoV – *Coronavirus* dos Gansos (*Goose Coronavirus*)
- GMT – Média Geométrica dos Títulos
- HI – Inibição de Hemaglutinação (*Haemagglutination Inhibition*)
- HVR – Regiões Hiper Variáveis (*Hypervariable Regions*)
- IBDV – Vírus da doença infecciosa bursal (*Infectious Bursal Disease Virus*)
- IFA – Imunofluorescência (*Immunofluorescent Assay*)
- Ig – imunoglobulinas
- IN – Instrução Normativa
- IPA – Imunoperoxidase (*Immunoperoxidase Assay*)
- LASAB – Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia
- M – Glicoproteína de Membrana
- Mabs – Anticorpos Monoclonais (*Monoclonal Antibodies*)
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- MASS – Massachusetts
- MDV – Vírus da doença de marek (*Marek's Disease Virus*)

N – Nucleoproteína

NK – *Natural Killer*

OEG – Ovos Embrionados de Galinha

ORFs – Regiões de Leitura Aberta (*Open Reading Frames*)

PhCoV – *Coronavirus* dos Faisões (*Pheasant Coronavirus*)

PiCoV – *Coronavirus* dos Pombos (*Pigeon Coronavirus*)

RFLP – Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*)

RNA – Ácido Ribonucleico

RNAmsg – RNA mensageiro subgenômico

RT-PCR – Reação em Cadeia de Polimerase pela Transcriptase Reversa (*Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*)

S – Glicoproteína de espícula (*Spike*)

SIPAG – Serviço de Inspeção de Produtos Agropecuários

SN – Soroneutralização

SNT – Teste de Soro Neutralização

SPF – Livre de Patógeno Específico (*Specific Pathogen Free*)

TCoV – *Coronavirus* dos Perus (*Turkey Coronavirus*)

TOC – Cultura de Órgão Traqueal de embrião de galinha (*Tracheal Organ Cultures*)

UTR – Região Não Traduzida (*Untranslated Region*)

VBI – Vírus da Bronquite Infecciosa

VI – Isolamento Viral (*Virus Isolation*)

VN – Vírus Neutralização

VNT – Teste de Vírusneutralização (*Virus Neutralization Test*)

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 DENIFICAÇÃO	16
3.2 HISTÓRICO	17
3.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SITUAÇÃO ATUAL	18
3.4 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS	20
3.4.1 Taxonomia	20
3.4.2 Morfologia e estrutura do vírus	20
3.4.3 Características físico químicas	24
3.4.4 Classificação viral	24
3.4.4.1 Tipos antigênicos	25
3.4.4.2 Patótipos	26
3.4.4.3 Protectótipos	27
3.4.4.4 Genótipos	27
3.4.5 Replicação viral	28
3.5 PATOGENIA	29
3.6 EPIDEMIOLOGIA	29
3.6.1 Hospedeiros	29
3.6.2 Transmissão	30
3.7 SINTOMAS	31
3.8 LESÕES MACROSCÓPICAS E HISTOPATOLÓGICAS	33
3.9 IMUNIDADE	34
3.10 DIAGNÓSTICO	36
3.10.1 Diagnóstico direto	37

3.10.2 Diagnóstico indireto	38
3.11 PREVENÇÃO E CONTROLE	41
ARTIGO	46
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

Dentre os segmentos da pecuária, a avicultura se destaca em produtividade devido à contínua agregação de novas tecnologias. Os indicadores de produção da avicultura brasileira estão entre os melhores do mundo (SALLE; SILVA, 2000).

Com grande importância no cenário mundial, em 2014 a produção de carne avícola chegou a 12,69 milhões de toneladas, garantindo ao país a posição de terceiro maior produtor, sendo superado por Estados Unidos e China. Desse total, 4,09 milhões de toneladas são exportadas para mais de 150 países, o que corresponde a 32,3% do total produzido. Desde 2004 o país ocupa a posição de maior exportador mundial (ABPA, 2015).

A Bahia vem se destacando na produção de carne de frango no Nordeste, sendo a 2ª produtora, com média de alojamento de 11,5 milhões/frango/mês e produção de 138,3 milhões/frango/ano, sendo a produção integrada correspondente a 85%, atendendo a 60% da necessidade do mercado interno¹. No *ranking* brasileiro de abate de frango, ocupa a 11ª posição (ABPA, 2015).

A atividade avícola no Estado da Bahia se desenvolve em diversas regiões, principalmente na região do Recôncavo e cidades vizinhas. Cinco municípios destacam-se na atividade: Conceição da Feira, São Gonçalo dos Campos, Cachoeira, Muritiba e Cruz das Almas. O município de Feira de Santana concentra empresas de produção especializada, fornecedoras de insumos, prestadoras de serviços, instituições de ensino públicas e privadas e de suporte para a atividade avícola (ABA,

¹ ABA. Associação Baiana de Avicultura. Alojamento de Pintinhos – Estado da Bahia/2015 – Relatório anual. Bahia, 2016.

2011).

Conceição da Feira se destaca pela concentração de empresas avícolas e é conhecida na Bahia como a Capital do Frango. A microrregião de Conceição da Feira merece destaque, pois tem participação de 70% da produção, tornando-se uma das principais atividades econômicas em relação à produção de aves (SANTOS; TEIXEIRA, 2010).

A implantação de programas para o melhoramento da qualidade dos produtos proporciona o crescimento da indústria avícola, além de expandir as fronteiras de exportação, sendo que as enfermidades infecciosas ainda representam o grande desafio enfrentado pela avicultura (JAIMES-OLAYA et al., 2010).

Entre as doenças respiratórias, a Bronquite Infecciosa das Galinhas (BIG) ocorre com grande frequência na avicultura industrial, cujo sistema de produção é intensivo (CAVANAGH, 2007), sendo a principal causa de perdas econômicas, pois provoca diminuição no ganho de peso devido à baixa eficiência alimentar, além da diminuição da produção e qualidade dos ovos (CAVANAGH; NAQI, 2003).

A BIG é uma doença viral, aguda e altamente contagiosa que acomete aves de diferentes idades em praticamente todas as partes do mundo onde há avicultura industrial (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000). A doença acomete o sistema respiratório superior, causando estertores traqueais, tosse e espirros (CAVANAGH; NAQI, 2003), mas algumas cepas desse *Coronavirus* podem infectar outros órgãos, como o sistema intestinal e urogenital (BIJANZAD et al., 2013a).

O controle da bronquite infecciosa tem sido feito por meio de programas de vacinação desenvolvidos de acordo com a epidemiologia da enfermidade na região e medidas básicas de biossegurança (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000), porém a ocorrência de diversos sorotipos tem comprometido as medidas de prevenção por meio da imunização (CAVANAGH; NAQI, 2003) e surtos da doença têm sido relatados em plantéis vacinados em vários países, inclusive no Brasil (RESENDE, 2003; MONTASSIER, 2010).

O diagnóstico sorológico de infecções pelo vírus da bronquite infecciosa (VBI), realizado através da utilização de *kits* comerciais de ELISA indireto, tem sido amplamente empregado como rotina de monitoramento sorológico de plantéis comerciais (CARDOSO et al., 2001; SOUZA; MARTINS; RESENDE, 2001). Esta técnica permite avaliar a eficiência dos programas de vacinação e conseqüentemente planejar as estratégias de controle da doença (MUÑIZ et al., 2000), além de possibilitar o monitoramento dos desafios de campo (DI FABIO et al., 2000).

De acordo com a Instrução Normativa (IN) nº 17, de 07 de abril de 2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2006), mortalidades elevadas ou com sinais sugestivos de Influenza Aviária ou Doença de Newcastle devem ser notificadas ao Serviço Veterinário Oficial.

Tendo em vista que grande número de notificações por alta mortalidade em decorrência de sintomatologia respiratória em aves comerciais é informada ao órgão oficial da Bahia, sendo a bronquite infecciosa atribuída como uma das causas desses surtos, pretende-se verificar, através de sorologia, os títulos vacinais para o VBI, a eficiência dos protocolos vacinais utilizados, a evidência de circulação de cepas de campo e contribuir para o controle da enfermidade na região.

Sendo assim, o município de Conceição da Feira foi selecionado por possuir a maior população de frango de corte do polo avícola de Feira de Santana, além de todas as empresas da região atuarem de forma integrada neste município, fato que proporciona a comparação dos resultados sorológicos com os diferentes protocolos de vacinação e de manejo adotados.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar, por meio da técnica de Elisa indireto, os níveis de anticorpos específicos para o vírus da bronquite infecciosa em frangos de corte nos diferentes sistemas de produção no município de Conceição da Feira, visando subsidiar os programas de prevenção e controle da enfermidade na região.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os níveis de anticorpos de frangos aos 14 dias e em aves com idade de abate (40 dias), das empresas integradoras e produtores independentes atuantes no município de Conceição da Feira.
- Avaliar a eficiência, a campo, do protocolo de vacinação utilizado pelas diferentes empresas integradoras e produtores independentes.
- Verificar se há evidência de circulação de vírus de campo e se os surtos de enfermidades respiratórias em frango de corte que ocorrem podem ser atribuídos à bronquite infecciosa.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 DEFINIÇÃO

A bronquite infecciosa das galinhas é uma doença viral, aguda, altamente infecciosa da espécie *Gallus gallus*, que acomete aves de diferentes idades e finalidades (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003).

Embora o vírus cause inicialmente uma doença respiratória, observa-se tropismo por outros órgãos, ocasionando lesões e sintomatologia no sistema urogenital (BENYEDA et al., 2009). No sistema digestório são relatadas alterações, sem causar lesões histológicas (BIJANZAD et al., 2013b), que resultam na excreção fecal do vírus (CAVANAGH, 2007; CHOUSALKAR; CHEETHAM; ROBERTS, 2010).

Como não é considerada uma zoonose, a doença não tem importância para a saúde pública (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003), porém está incluída na lista de doenças de notificação obrigatória mensal, descrita na IN nº 50, de 24 de setembro de 2013 do MAPA (BRASIL, 2013).

Entretanto, de acordo com a IN nº 17, de 07 de abril de 2006 do MAPA, em seu artigo 16, parágrafo 2º:

Quando da análise do Botetim Sanitário, caso seja identificada taxa de mortalidade superior a 10% (dez por cento) num período inferior a 72 (setenta e duas) horas, desde o alojamento das aves no estabelecimento de origem até a emissão do boletim sanitário, ou quando identificada mortalidade igual ou superior a 1% (um por cento) durante o transporte das aves, do galpão ao abatedouro, ou ainda quando identificados sinais clínicos sugestivos de Influenza Aviária ou Doença de Newcastle no lote de aves, deverá ser realizada comunicação imediata ao Serviço de Inspeção de Produtos Agropecuários (SIPAG) e ao Serviço de Defesa Agropecuária (SEDESA) sobre o ocorrido (BRASIL, 2006, p. 6).

Diante do exposto, toda enfermidade que apresente sintomatologia respiratória,

nervosa e/ou digestiva com mortalidade súbita e/ou elevada, deve ser imediatamente notificada.

3.2 HISTÓRICO

A BIG foi observada pela primeira vez em 1930 na Dakota do Norte, EUA e descrita por Schalk e Hawn em 1931 como uma doença respiratória de aves jovens (FABRICANT, 1998), sendo posteriormente observada em aves semimaduras e poedeiras (CAVANAGH; NAQI, 2003). Beach; Schalm (1936) demonstraram, através de testes de filtração e de imunidade cruzada, que o agente causal era um *Coronavirus*, diferente do causador da laringotraqueíte infecciosa, que é um *Herpesvirus*, apesar da sintomatologia semelhante. O primeiro cultivo em ovos embrionados de galinha (OEG) foi realizado por Beaudette e Hudson em 1937, que observaram a ocorrência da morte embrionária, sem causar as lesões na membrana corioalantóide, associadas à laringotraqueíte (FABRICANT, 1998; CAVANAGH; NAQI, 2003).

O declínio na produção de ovos em poedeiras comerciais foi observado na década de 40, enquanto que lesões nos rins foram observadas na década de 60. Devido à grande importância econômica da doença, esforços para preveni-la foram realizados por Van Roekel, em 1941, quando submeteu aves à exposição controlada ao vírus durante a fase de crescimento, antes do início da postura, dando os primeiros passos para o desenvolvimento de programas de vacinação (CAVANAGH; NAQI, 2003). Na década de 50 iniciou-se a utilização de vacinas vivas e duas décadas depois o uso de vacinas inativadas (CAVANAGH, 2003).

Jungherr et al. relataram, em 1956, que os isolados Massachusetts (Mass) e Connecticut produziam a mesma doença, porém não ofereciam proteção ou reação

cruzada, demonstrando a existência de mais de um sorotipo (CAVANAGH; NAQI, 2003). Após a descrição do primeiro sorotipo do vírus, Mass, outros sorotipos e genótipos foram relatados em diversas partes do mundo (CUBILLOS et al., 1991; COOK et al., 1999; DE WIT; COOK; VAN DER HEIJDEN, 2011) e mostraram diferentes patogenicidades em galinhas (ABDEL-MONEIM; MADBOULY; EL-KADY, 2005). No início da década de 60, a doença já havia sido notificada em quase todo o mundo (MUNEER et al., 1999).

No Brasil, o primeiro isolamento do vírus foi relatado por Hipólito em 1957, no estado de Minas Gerais. A vacinação com o sorotipo Mass, cepas H52 e/ou H120, foi instituída oficialmente em 1979 e até 1989, através de testes de neutralização cruzada, a maioria das cepas de campo brasileiras eram classificadas no sorotipo vacinal (ITO, 2006 apud MONTASSIER, 2010). Já na década de 1990, estudos encontraram, em aves comerciais em todo o Brasil, pelo menos cinco tipos antigênicos diferentes do sorotipo vacinal (DI FABIO et al., 2000).

3.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SITUAÇÃO ATUAL

Grandes perdas econômicas ocorrem devido à redução na produção através da diminuição do ganho de peso e eficiência alimentar, diminuição da produção e qualidade dos ovos, aumento da condenação de carcaças ao abate (CAVANAGH; NAQI, 2003) e gastos com medicamentos para controlar infecções bacterianas secundárias (CAVANAGH, 2003).

Distribuída mundialmente, tem sido relatada principalmente onde há avicultura industrial, sendo a doença considerada um dos mais importantes problemas sanitários deste setor (CAVANAGH; NAQI, 2003; CAVANAGH, 2007), inclusive no Brasil, apesar da ampla utilização de vacinas vivas atenuadas e inativadas

(MONTASSIER, 2010).

Vírus da BIG foram isolados em diversos países da América do Norte (FABRICANT, 1998; AMMAYAPPAN; VAKHARIA, 2009), América do Sul (CUBILLOS et al., 1991; BALESTRIN et al., 2014), Europa (DAVELAAR; KOUWENHOVEN; BURGER, 1984; COOK et al., 1999), Ásia (MUNEER et al., 1987; AL-HAMMAD; AL-AFALEQ; MOHAMED, 2014), África (ABDEL-MONEIM; AFIFI; EL-KADY, 2012; AFIFI et al., 2015) e Oceania (CHOUSALKAR; CHEETHAM; ROBERTS, 2010).

No Brasil tem sido isolado em diversas regiões, pois Di Fábio et al. (2000) analisaram e caracterizaram 15 amostras isoladas de surtos de doença respiratória, digestiva e/ou renal em frangos de corte, poedeiras comerciais e matrizes pesadas nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Bahia, ficando clara a existência de cinco diferentes tipos de VBI. Souza; Martins; Resende (2001) encontraram cepas variantes da amostra vacinal M41 em amostras de surto ocorrido em Minas Gerais e, dos doze isolados de campo estudados por Montassier et al. (2008), em São Paulo e Santa Catarina, sete pertenciam a quatro genótipos diferentes do sorotipo vacinal.

De acordo com Sandri (2009), existe uma alta frequência (>77,5%) da doença nas regiões nordeste, sul, sudeste e centro-oeste em matrizes, poedeiras e frangos de corte, prevalecendo também o genótipo diferente do tipo vacinal. Da mesma maneira, Balestrin et al. (2014) identificaram variantes do sorotipo vacinal Mass e variantes brasileiras, denominadas BR-I e BR-II em lotes comerciais de frangos de corte e matrizes nas regiões nordeste, sul e sudeste.

Apesar da utilização de vacinas vivas atenuadas e inativadas da cepa Mass, a doença no Brasil é endêmica e surtos ocorrem provavelmente devido à emergência de cepas variantes do sorotipo vacinal utilizado (MONTASSIER, 2010).

Vale salientar que, no Brasil e em muitos países do mundo, a única vacina permitida para uso é do sorotipo Mass e que estudos de desafio indicam inadequada proteção contra algumas cepas variantes (COOK et al., 1999; DI FABIO et al., 2000).

Há evidências de que a doença ocorra em todo o país, e os surtos registrados no

último ano foram 14 no Mato Grosso, 16 em Minas Gerais, um no Paraná e 10 em Santa Catarina (OIE, 2015), que demonstra a ampla distribuição da ocorrência da enfermidade no Brasil.

3.4 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIAS

3.4.1 Taxonomia

O vírus da bronquite infecciosa pertence à ordem Nidovirales, família Coronaviridae e gênero *Coronavirus*, que se subdivide em três grupos, baseado em propriedades antigênicas e identidade de aminoácidos. Os grupos 1 e 2 pertencem às coronaviroses de mamíferos e o grupo 3 aos coronavírus aviários, no qual estão os coronavírus das galinhas (VBI), dos perus (*Turkey Coronavirus* - TCoV) e dos faisões (*Pheasant Coronavirus* - PhCoV), geneticamente bastante relacionados, além de coronavírus dos gansos (*Goose Coronavirus* - GCoV), patos (*Duck Coronavirus* - DCoV) e pombos (*Pigeon Coronavirus* - PiCoV) (CAVANAGH, 2003; 2005).

Cavanagh et al. (2002) comprovaram que o isolado de faisão phUK750/83 apresentou 95,7% a 99,4% de identidade com outros coronavírus de faisões; 96,3% a 97,0% com o de perus e 96,3% a 97,6% com o VBI.

3.4.2 Morfologia e estrutura do vírus

De forma arredondada a pleomórfica, o envelope lipídico possui diâmetro de 90 a 200nm, aproximadamente 120nm, com projeções superficiais denominadas "spikes" (espículas), de 20nm de comprimento, que conferem ao vírus o aspecto de uma coroa, justificando o nome dado ao gênero (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; ABDEL-MONEIM et al., 2002; CAVANAGH; NAQI, 2003; ABDEL-MONEIM; MADBOULY; EL-

KADY, 2005).

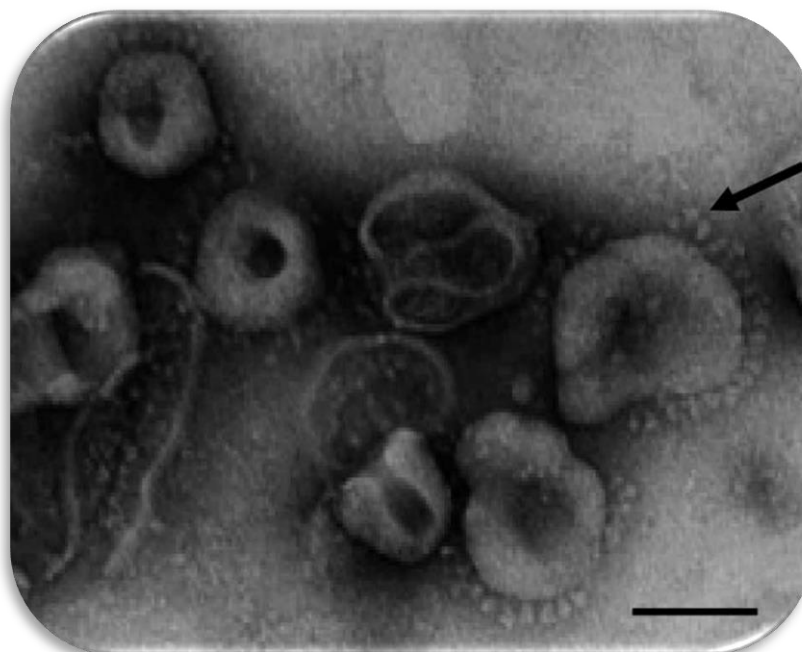


Figura 1 – Micrografia eletrônica de partículas do *Coronavirus* da BIG (COOK; JACKWOOD; JONES, 2012).

Estruturalmente é constituído por três proteínas principais: nucleoproteína (N), glicoproteína de membrana (M) e glicoproteína de espícula "spike" (S). Uma quarta proteína denominada de pequena proteína de membrana (E), com 100 aminoácidos, está associada ao envelope viral e é essencial para a formação da partícula viral (CAVANAGH; NAQI, 2003; CAVANAGH, 2007).

O genoma viral é composto por uma cadeia de RNA de fita simples com simetria helicoidal (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000), não segmentado, no sentido positivo, com 27600 nucleotídeos (CAVANAGH; NAQI, 2003) e se encontra envolvido pela nucleoproteína (N), com 420 aminoácidos, formando o nucleocapsídeo (CAVANAGH, 2007). Esta proteína desempenha um papel na replicação do RNA viral (JACKWOOD; HALL; HANDEL, 2012) e, juntamente com a glicoproteína S1, desencadeia uma imunidade protetora através da indução da resposta dos linfócitos T citotóxicos no hospedeiro (SEO et al., 1997).

A glicoproteína de membrana (M), tem 230 aminoácidos, com uma pequena porção

exposta à superfície externa do vírus e está relacionada com processos de recombinação entre os diferentes sorotipos (LAI; CAVANAGH, 1997; DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003).

As projeções de membrana, denominadas proteínas S, compostas de 1162 aminoácidos, são divididas em duas subunidades, sendo S1 com 535 e S2 com 627 aminoácidos e, de acordo com Casais et al. (2003), desempenham um importante papel no tropismo celular do vírus.

A fração S2, carboxi-terminal, funciona como suporte da fração S1 e ancora a proteína S no envoltório lipídico da membrana (LAI; CAVANAGH, 1997), sendo responsável pela fusão das membranas do vírus e da célula do hospedeiro, para posterior entrada do genoma viral (CAVANAGH, 2005, 2007; JACKWOOD; HALL; HANDEL, 2012).

A fração S1, amino-terminal em formato de bulbo, é responsável pela adsorção ao receptor celular e infectividade viral e induz a formação de anticorpos neutralizantes e inibidores de hemaglutinação (CAVANAGH et al., 1986; KOCH et al., 1990; CAVANAGH, 2007; BOUROGÂA et al., 2014), que são responsáveis pela resposta imune protetora. Por outro lado, Ignjatovic; Galli (1995) detectaram resposta imunológica também às proteínas estruturais S2 e N. Mutações, recombinações e forte pressão seletiva, que ocorrem na fração S1, promovem o surgimento de variantes ou novos sorotipos, estratégia do vírus para escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro, levando à evolução do vírus (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; ABRO, 2013).

As três regiões mais variáveis da fração S1, denominadas de hipervariáveis (*Hypervariable regions* – HVRs), são responsáveis por estas características e estão localizadas nos primeiros 395 aminoácidos, entre os resíduos 38 a 67, 91 a 141 e 274 a 387 (CAVANAGH, 2005).

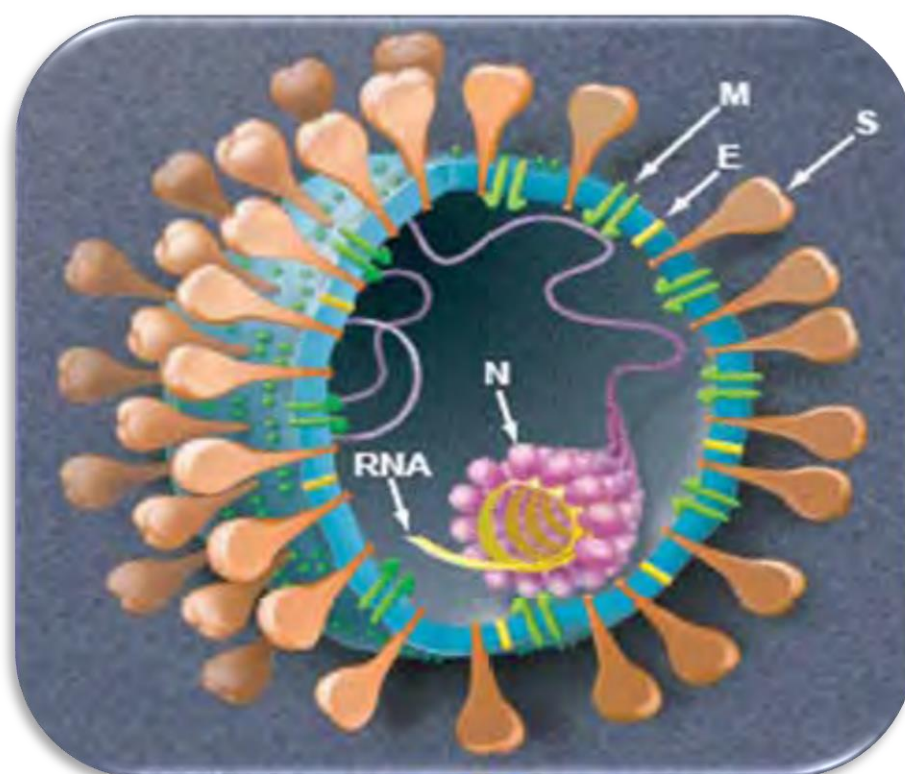


Figura 2 – Esquema contendo a organização estrutural do *Coronavirus* da bronquite infecciosa. São destacadas as proteínas estruturais: S, glicoproteína de superfície; N, proteína fosforilada de nucleocapsídeo, e a M, glicoproteína de membrana (OLIVEIRA, 2008)

Todos os coronavírus possuem a mesma organização do genoma: 5'UTR-1a/1ab-S-3a-3b-E-M-5a-5b-N-3'UTR (JACKWOOD; HALL; HANDEL, 2012). As regiões 5' UTR e 3' UTR, cada uma com cerca de 500 nucleotídeos, não são traduzidas (*untranslated region* - UTR) e ficam localizadas no final do genoma. O gene polimerase (gene 1), que compreende as regiões de leitura aberta (ORFs - *Open Reading Frames*) 1a e 1b, codificam 15 ou 16 proteínas não estruturais associadas com a replicação e transcrição do RNA. Os genes das proteínas estruturais S, E, M e N e, localizados entre as proteínas estruturais, estão os genes 3, com 3 ORFs, que codificam as proteínas não estruturais 3a, 3b e 3c (esta codifica a proteína E) e o gene 5, com 2 ORFs, que codificam as proteínas não estruturais 5a e 5b (LAI; CAVANAGH, 1997).

De acordo com Casais et al. (2005) e Hodgson et al. (2006), estas 5 proteínas não estruturais, dos genes 3 e 5, não estão envolvidas no processo de replicação viral,

mas podem exercer um importante papel no tropismo ou patogenicidade do vírus e não são observados nos *Coronavirus* dos mamíferos (LAI; CAVANAGH, 1997; CAVANAGH et al., 2002; CAVANAGH, 2007).

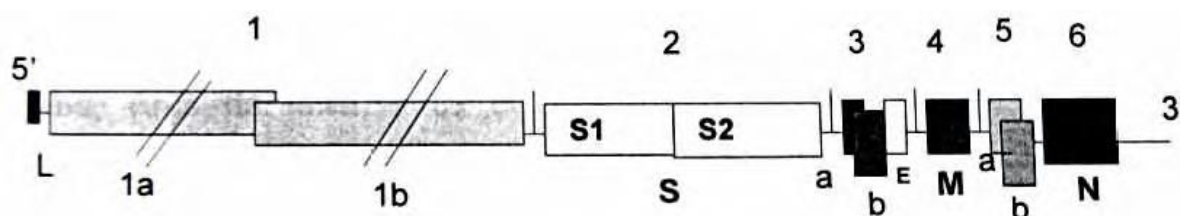


Figura 3 – Esquema representativo do genoma completo do vírus da bronquite infecciosa (OLIVEIRA, 2008)

3.4.3 Características físico-químicas

A maioria das cepas do VBI são termosensíveis, sendo inativadas a 56°C após 15 minutos, porém, de acordo com Abdel-moneim; Madbouly; El-Kady (2005), após 5 minutos, esse efeito é obtido. Fluido alantóide infeccioso pode ser estocado em glicerina a 50%, sem refrigeração, e a 30°C por 24h ou -30°C por vários anos. Tecidos infectados refrigerados conservam o vírus por 80 dias. Liofilizado e refrigerado, o vírus pode ser mantido por até 30 anos. Apresenta resistência ao pH 3 e 9, sendo mais estável ao pH 6 e 6,5 e é sensível à maioria dos desinfetantes e à radiação ultravioleta (EL-HOUADFI et al., 1986; DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; ABDEL-MONEIM; MADBOULY; EL-KADY, 2005; FERREIRA et al., 2010; JACKWOOD; HALL; HANDEL, 2012).

3.4.4 Classificação viral

A classificação da cepa viral circulante em uma região ou país é importante para o conhecimento da epidemiologia e para a adoção de medidas de controle específicas e divide-se em dois grupos: testes funcionais que, através da função biológica do vírus, resultam em tipos antigênicos (sorotipos e tipos epítomos), patótipos e

protectótipos (imunotipos) e testes não funcionais, que definem o genoma viral em genótipos. Diversos testes estão disponíveis ao redor do mundo para a identificação e classificação do vírus (DE WIT, 2000).

3.4.4.1 Tipos antigênicos

A sorotipagem é o método de tipificação baseada na reação entre a cepa viral e o anticorpo produzido pela resposta imune da ave. Classicamente é realizada através de testes de virusneutralização (*virus neutralization test* – VNT) em ovos embrionados de galinhas livres de patógenos específicos (*specific pathogen free* - SPF), cultura de células (*cell culture* – CC) e em cultura de órgãos traqueais de galinha (*tracheal organ cultures* – TOC) (CUBILLOS et al., 1991; COOK; SMITH; HUGGINS, 1986; EPIPHANIO et al., 2002) com a utilização de antissoros padrão (CAVANAGH; NAQI, 2003).

A falta de padronização entre os diferentes laboratórios traz desvantagem na comparação dos resultados e, quando novos tipos de vírus são detectados, novos antissoros devem ser produzidos, o que torna este método não prático e caro (DE WIT, 2000).

Nas décadas seguintes aos primeiros isolamentos do VBI nas diferentes regiões produtoras no mundo, dezenas de sorotipos e variantes do vírus foram identificados e associados com a doença (IGNJATOVIC; SAPATS, 2000; RIMONDI et al., 2009; FELIPPE et al., 2010).

A classificação em sorotipos é determinada pelas características da subunidade S1 da glicoproteína S. Testes que utilizam anticorpos monoclonais (Mabs), que podem ser utilizados em ensaios de ELISA, reconhecem epítomos da subunidade S1 e identificam sorotipos de forma mais rápida e econômica que os testes de virusneutralização (KOCH et al., 1990; CAVANAGH; NAQI, 2003).

Porém, a ocorrência de pequena mutação pode gerar resultado falso-negativo, já

que não há ligação entre o Mab e o epítopo. Este processo, porém, não significa que o vírus seja de outro sorotipo, sendo necessário refazer o teste com outra técnica para verificação, o que não acontece quando o Mab é direcionado contra regiões conservadas do vírus (DE WIT, 2000).

Essa capacidade de mutação e recombinação ocorre devido ao material genético do vírus ser composto por RNA, que devido à fita simples, erros não são reparados durante o processo de replicação (JACKWOOD; HALL; HANDEL, 2012).

No entanto, segundo Koch et al. (1990), Mabs específicos para proteína de membrana ou nucleoproteína não neutralizam o vírus ou inibem a hemaglutinação.

Pequenas diferenças nos aminoácidos da proteína S1 favorecem o surgimento de um novo sorotipo do vírus (CAVANAGH, 2003), na maioria dos casos, em torno de 20 a 25% (LIU; KONG, 2004), porém, algumas variantes com apenas 2 a 3% de diferença, comportam-se como dois sorotipos diferentes (COOK, 1984; COOK; HUGGINS, 1986; KOCH et al., 1990; CAVANAGH et al., 1992; CAVANAGH et al., 2005), enquanto que o restante do genoma permanece inalterado (COOK et al., 1999). Já a proteína S2 é mais conservada e difere cerca de 10 a 15% dos polipeptídeos (CAVANAGH et al., 1992).

Os processos de mutação, que incluem inserções e deleções e de recombinação, através da ocorrência de infecções mistas, além da pressão de seleção pelo uso prolongado de vacinas vivas, são os principais mecanismos de evolução do vírus e levam ao surgimento de novas cepas e variantes (JIA et al., 1996; DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; LIU; KONG, 2004; CAVANAGH et al., 2005; AMMAYAPAN e VAKHARIA, 2009; JACKWOOD; HALL; HANDEL, 2012).

3.4.4.2 Patótipos

De acordo com o tropismo tecidual e as lesões causadas nos órgãos de variados sistemas, as cepas do vírus são classificadas em patótipos (DHINAKAR; JONES,

1997a; CAVANAGH, 2005; ABDEL-MONEIM et al., 2009; MONTASSIER, 2010). Deste modo, as manifestações clínicas da doença podem ser respiratórias (CUBILLOS et al., 1991; COOK et al., 1999), renais (ABDEL-MONEIM et al., 2006), reprodutivas (COOK; HUGGINS, 1986; MUNEER et al., 1987; AMJAD; HASSAN; ARSALAN, 2009) e entéricas (BIJANZAD et al., 2013b). Algumas cepas podem estar relacionadas à miopatia peitoral (CAVANAGH; NAQI, 2003; ALMEIDA et al., 2012), além disso, o VBI já foi isolado na bursa de fabricius (BIJANZAD et al., 2013a), glândula harderiana (TORO et al., 2006) e proventrículo (ABDEL-MONEIM et al., 2009).

3.4.4.3 Protectótipos

A imunidade produzida por um sorotipo promove pouca proteção contra infecção por outro sorotipo (CAVANAGH, 2003). Estudos de imunização cruzada (*cross-immunization study* - CIS), realizados em aves SPF (DARBYSHIRE, 1985; COOK et al., 1999; GELB et al., 2005) ou testes de imunidade cruzada (*cross-immunization test* - CIT), em cultivo de anéis de traqueia (EPIPHANIO et al., 2002), sugerem uma nova classificação viral, em protectótipos, com base na resposta imune, na qual um sorotipo confere imunidade para outro sorotipo (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000).

Importante informação sobre a eficácia de uma vacina é fornecida com esta classificação (DE WIT; COOK; VAN DER HEIJDEN, 2010; DE WIT et al., 2011) sendo mais relevante um estudo de proteção cruzada para determinar um programa de vacinação eficiente, do que o conhecimento do sorotipo de um novo isolado; porém são testes laboriosos e caros (MALO et al., 1998; COOK et al., 1999).

3.4.4.4 Genótipos

É a classificação baseada na caracterização do genoma ou parte dele. Testes de sequenciamento de nucleotídeos são realizados preferencialmente no gene S (KUSTERS et al., 1987; DOLZ et al., 2008), mas também no gene M (CAVANAGH;

DAVIS, 1988) ou no gene N (BOURSNELL et al., 1985; ZWAAGSTRA; VAN DER ZEIJST; KUSTERS, 1992). Além do sequenciamento, a detecção de partes específicas do genoma, através de reação em cadeia de polimerase pela transcrição reversa (RT-PCR) ou a determinação da posição dos sítios de clivagem da enzima (análise de restrição do gene S1) através da técnica de polimorfismo dos comprimentos de fragmentos de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphisms* - RFLP), são cada vez mais usados (DE WIT, 2000; WANG; KHAN, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003; MONTASSIER et al., 2008).

A genotipagem tem como objetivo estudos epidemiológicos, não sendo recomendada a utilização em testes de campo, pois a sequência genética não fornece informação sobre a função biológica ou antigenicidade do vírus (DE WIT, 2000), além de que, apesar de ser um teste fácil e rápido, a variedade de *primers* utilizados pelos diferentes grupos de pesquisa fazem a sua interpretação difícil e enfatiza a necessidade da padronização deste método (DE WIT; COOK; VAN DER HEIJDEN, 2010).

A análise utilizando grandes segmentos de S1 é essencial para a classificação da cepa, porém, Abreu et al. (2010) aconselham a análise de mais de um gene para a classificação genômica.

3.4.5 Replicação viral

Inicialmente o VBI se liga aos receptores da célula do hospedeiro, através da glicoproteína S, e a replicação do vírus ocorre no citoplasma (LAI; CAVANAGH, 1997). A RNA polimerase é sintetizada, através da ligação do RNA genômico aos ribossomos e o transcreve em RNA complementar (cRNA) (JEONG; MAKINO, 1992). Este serve de molde para a síntese de um novo RNA genômico e dos 6 RNA's mensageiros subgenômicos (RNAm_{sg}) (SIDDELL, S., 1983), que são produzidos numa transcrição descontínua (STERN; SEFTON, 1982; LAI; CAVANAHG, 1997).

Após a síntese das proteínas estruturais e não estruturais para montagem da

partícula viral, a formação de um novo vírus se dá por brotamento através da membrana do retículo endoplasmático e complexo de Golgi (SIDDELL; WEGE; MEULEN, 1983; TOMLEY et al., 1987) e os vírus acumulados em pequenas vesículas são liberados da célula cerca de 3 a 4 horas após a infecção, alcançando o pico em torno de 12 horas (CAVANAGH; NAQI, 2003).

3.5 PATOGENIA

A infecção e replicação iniciais, independente da cepa do vírus, geralmente ocorrem no trato respiratório superior, nas células epiteliais ciliadas e secretoras de muco, causando lesões na traqueia (DHINAKAR; JONES, 1997a; CAVANAGH; NAQI, 2003).

Em muitos casos observa-se a recuperação, porém na infecção em aves jovens, a ocorrência de infecção secundária ou infecções com cepas de campo virulentas, favorecem o aumento na mortalidade (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003).

Após a replicação inicial, ocorre a viremia, disseminando o vírus para outros tecidos (DHINAKAR; JONES, 1997a). Devido a diferentes tropismos, o vírus se replica nos sistemas urinário (rins), reprodutivo (oviduto e testículos), digestório (esôfago, proventrículo, duodeno, jejuno e tonsila cecal) glândula harderiana, bursa de fabrícius, músculo peitoral, provocando variadas lesões e sintomatologias (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003; TORO et al., 2006; CAVANAGH, 2007; ABDEL-MONEIM et al., 2009).

3.6 EPIDEMIOLOGIA

3.6.1 Hospedeiros

Apesar de ser geneticamente muito similar aos coronavírus que causam doença entérica em perus (CAVANAGH et al., 2001) e doença respiratória e renal em faisões (CAVANAGH et al., 2002), o vírus da bronquite infecciosa acomete naturalmente e causa doença apenas na galinha (CAVANAGH; NAQI, 2003). De acordo com Guy (2000), os coronavírus de perus e faisões são capazes de replicar em galinhas, porém sem causar doença.

Liu et al. (2005) evidenciaram uma gama maior de hospedeiros para o VBI, pois verificaram a replicação do vírus em outra ave galiforme (pavão) e em ave não galiforme (cerceta, um tipo de pato), porém também sem causar doença.

Felippe et al. (2010) isolaram o VBI em seis das doze amostras coletadas de pombos, sem sintomas da enfermidade, em Campinas-SP. Destas, cinco foram agrupadas no sorotipo vacinal Mass e uma foi similar ao sorotipo Connecticut, cuja cepa não é utilizada como vacina no Brasil, o que mostra a importância desta espécie aviária na disseminação e nos processos de recombinação do vírus.

Já que estudos indicam que os coronavírus de uma espécie têm capacidade de se replicar em hospedeiro de outra espécie, existe a possibilidade de causar doença ou destas outras espécies atuarem como vetores do vírus, transportando-o a longas distâncias (CAVANAGH, 2005).

3.6.2 Transmissão

A disseminação do vírus da BIG é rápida e ocorre por contato direto entre as aves, via aerossol através de exudatos traqueais e fezes ou indireto, via água e alimentos contaminados com fezes. Equipamentos e pessoas também são importantes vias de contaminação entre lotes (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003).

Devido à característica altamente infecciosa e à replicação inicial no trato respiratório superior, sinais respiratórios podem ser observados dentro de 36h após a infecção e altas concentrações do vírus estão presentes durante os primeiros 3 a 5 dias no muco da traqueia (CHEN et al., 1996; DHINAKAR; JONES, 1997a; ABDEL-MONEIM et al., 2005, 2006; BENYEDA et al., 2009; AFIFI et al., 2015). Por ser altamente contagiosa e de rápida disseminação, em estudo realizado no Paquistão, Ahmed; Naeem; Hameed (2007) encontraram 88% de incidência, porém, podendo se aproximar de 100% (IGNJATOVIC; SAPATS, 2000).

Durante a fase de recuperação da doença, altas concentrações de vírus são detectadas nas fezes, na qual o vírus pode ser isolado após 20 semanas de infecção (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000).

Após recuperação, a ave pode manter a infecção persistente (DHINAKAR; JONES, 1997a) e excretar periodicamente o vírus através de secreções nasais ou fezes (CAVANAGH; NAQI, 2003). Fatores estressantes, como o início da fase de postura, podem desencadear a excreção do vírus novamente, após o período de replicação (CAVANAGH, 2007).

3.7 SINTOMAS

Devido à diversidade de tropismos que apresentam as cepas virais, variadas sintomatologias e taxas de mortalidades são relatadas e dependem da virulência da cepa, idade da ave, *status* imunitário, condições de alojamento e estresse das aves (CAVANAGH; NAQI, 2003; DHINAKAR; JONES, 1997a; BANAT et al., 2013), sendo observadas após um período de incubação de 18 a 36h (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000).

A doença acomete aves de todas as idades, porém é mais severa nas jovens (CAVANAGH; NAQI, 2003). Nas aves maduras, observam-se as consequências

econômicas da infecção, que são atribuídas à diminuição do ganho de peso, da eficiência alimentar, da produção e qualidade dos ovos, além da condenação de carcaças ao abate (CAVANAGH, 2003, 2007; CAVANAGH; NAQI, 2003; BOCHKOV et al., 2006).

Sintomatologia respiratória como espirros, tosse, estertores traqueais, dispneia, descarga nasal, lacrimejamento, além de penas arrepiadas e letargia podem ser a causa da mortalidade nos pintos jovens, porém, a maioria se dá por infecção bacteriana secundária (*Escherichia coli* ou *Mycoplasma*), que leva à aerossaculite, pericardite e perihepatite (DHINAKAR; JONES, 1997a; CAVANAGH; NAQI, 2003; BIJANZAD et al., 2013a; ALAZAWY, 2013).

Lesões no sistema reprodutivo variam de acordo com a idade das aves no momento da infecção. Em poedeiras, observa-se severo declínio da produção, tamanho, qualidade interna e externa dos ovos, além de alteração na coloração da casca, cuja produção retorna, porém em níveis subótimos, após duas a três semanas pós-infecção (COOK; HUGGINS, 1986; DHINAKAR; JONES, 1997a; CHOUSALKAR; ROBERTS, 2009). Em aves jovens, com menos de duas semanas de idade, podem ocorrer danos permanentes no desenvolvimento do sistema reprodutivo e induzir a formação de falsas poedeiras, cujas aves se desenvolvem normalmente, porém nunca vão entrar em fase de postura (DHINAKAR; JONES, 1997a; DE WIT et al., 2011).

Aves acometidas por cepas renais apresentam depressão, penas eriçadas, aumento na ingestão de água e diarreia aquosa (CHEN et al., 1996) e a taxa de mortalidade pode chegar a 30%, aumentada na ocorrência de urolitíase (ABDEL-MONEIM; AFIFI; EL-KADY, 2012).

Cepas enterotrópicas têm sido associadas à intensa diarreia, sendo detectadas a cepa 793/B, 14 dias após a infecção (DHINAKAR; JONES, 1996a) e a amostra G, 28 dias após a infecção (EL-HOUADFI et al., 1986), porém vírus foram isolados de fezes até 20 semanas após a infecção, tornando o trato intestinal um importante sítio de persistência e disseminação do vírus (DHINAKAR; JONES, 1997a; DI FÁBIO;

ROSSINI, 2000).

Devido à evidência de replicação do vírus na glândula harderiana e bursa de fabricius, a infecção pode resultar em imunossupressão (DHINAKAR; JONES, 1996a).

3.8 LESÕES MACROSCÓPICAS E HISTOPATOLÓGICAS

Nas infecções respiratórias observa-se exsudato seroso, catarral ou caseoso nos seios nasais e traqueia, que se apresenta edematosa, com descamação das células epiteliais e produtoras de muco, além da perda de cílios. Sacos aéreos mostram opacidade e podem apresentar massa caseosa amarelada e pequenas áreas de pneumonia (CUBILLOS et al., 1991; COLÁS et al., 2012).

No oviduto observa-se edema de mucosa, perdas de células epiteliais e cílios, além de dilatação das glândulas tubulares com acúmulo de líquido (DHINAKAR; JONES, 1996b; DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; BENYEDA et al., 2009; DE WIT et al., 2011), que contribuem para a diminuição na produção de ovos (CAVANAGH, 2003).

No sistema urinário observam-se rins pálidos e inchados, distensão dos túbulos e ureteres com presença de uratos, além de nefrite intersticial (ABDEL-MONEIM et al., 2002, 2006; LIU; KONG, 2004; BOUQDAOUI et al., 2005; CHOI et al., 2009).

Embora o vírus tenha tropismo pelo tecido intestinal, lesões macroscópicas e histológicas não são relatadas (DHINAKAR, JONES, 1997a).

No músculo peitoral, Dhinakar; Jones (1996a) verificaram edema e palidez, provavelmente devido à deposição de imunocomplexos nas paredes dos capilares dos músculos, enquanto que Almeida et al. (2012) encontraram, além destas alterações, atrofia e alteração na coloração do músculo que variou de vermelho arroxeado à verde.

3.9 IMUNIDADE

A imunidade pode ser inata ou adquirida. A inata ocorre quando respostas à invasão de um agente externo são inespecíficas e sem memória imunológica, tais como barreiras físicas (pele e membranas mucosas), presença de lisozimas e proteínas de fase aguda, além de células, tais como granulócitos, macrófagos e células *natural killer* (NK). A adquirida pode ser passiva ou ativa. A forma passiva se dá através da transferência de anticorpos maternos à progênie, enquanto que a forma ativa ocorre quando mecanismos de resposta imune protetora são acionados contra agentes específicos, que pode ser humoral, na qual a bursa de Fabrício produz as imunoglobulinas através dos linfócitos B e celular, sendo o timo responsável pela produção das linfocinas, através dos linfócitos T, gerando células de memória (DHINAKAR; JONES, 1997a; DI FÁBIO; ROSSINI, 2000).

As classes de anticorpos ou imunoglobulinas (Ig) envolvidas na resposta imune a uma infecção pelo VBI são IgM, IgG e IgA, sendo IgM e IgG produzidas quando o antígeno provoca viremia, enquanto que a IgA é responsável pela proteção das mucosas (SALLE; SILVA, 2000). Proteção precoce é fornecida aos pintos através da imunidade materna e, apesar da curta duração, em torno de sete dias (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000), possibilita a utilização da gema do ovo em monitoramentos de anticorpos para avaliação da resposta a vacinação (MOCKETT; COOK; HUGGINS, 1987; TURBLIN, 2010). Klieve; Cumming (1988) observaram os efeitos dos anticorpos maternos através da redução dos danos renais causados nas aves vacinadas e desafiadas com cepa virulenta na Austrália.

Após vacinação ou infecção, IgA e IgG são produzidas em secreções e detectadas

em mucosas, principalmente do sistema respiratório superior, mas também na glândula harderiana, traqueia, oviduto, intestino e tonsilas cecais (DHINAKAR; JONES 1997a). Devido a principal porta de entrada para o VBI ser o sistema respiratório, a imunidade local, promovida por estas imunoglobulinas, tem papel importante como primeira linha de defesa do organismo (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000), conforme demonstrado por Davelaar; Kouwenhoven (1980), cuja remoção da glândula harderiana provocou diminuição do nível de proteção.

A resposta imune humoral ocorre após a viremia, sendo que os testes de ELISA, inibição da hemaglutinação (*haemagglutination inhibition* – HI) e soroneutralização (SN) detectam os anticorpos das classes IgM e IgG. A IgM indica uma infecção recente, já que é o primeiro anticorpo a ser detectado, em aproximadamente sete dias, e persiste por 20 a 90 dias após uma infecção (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000); porém, Mockett; Cook (1986) verificaram a presença de curta duração variando entre 5 e 18 dias, com o pico aos 8 dias.

A IgG é a que se apresenta por períodos mais longos, sendo utilizada nos testes de diagnóstico e monitoramentos de plantéis, observada em até 42 dias, com declínio gradual (MOCKETT; COOK, 1986). De acordo com Mockett; Darbyshire (1981), é detectada aos 4 dias, atinge o pico aos 21 e permanece com altos títulos por várias semanas. Em um segundo desafio, a resposta de IgM e IgG ocorre ao mesmo tempo, porém com declínio mais rápido de IgM (CAVANAGH, 2007).

A resposta imune mediada por células promove a rápida eliminação do vírus nos tecidos infectados, através da ação das células T citotóxicas (CTL), CD8+ e CD4-, com pico máximo aos 10 dias pós infecção, sendo observada diminuição da replicação, da carga viral e dos sinais clínicos, ao mesmo tempo em que se observa aumento da resposta humoral IgG, com declínio de CTL (JANSE; ROOZELAAR; KOCH, 1994; SEO; COLLISSON, 1997).

Segundo Pei; Briles; Collisson (2003), células T de memória CD8+, colhidas entre 3 e 6 semanas pós infecção e transferidas para pintos de 6 dias de idade e desafiadas um dia depois, protegeram contra infecção aguda. Portanto, aves acometidas de

doenças imunossupressoras, como a doença infecciosa bursal, que afeta as células-B e a anemia infecciosa das galinhas, que afetam as células-T apresentam baixa resposta imunológica, exacerbando os efeitos da BIG, assim como, aves que receberam substâncias antimicrobianas (DHINAKAR; JONES, 1997a).

De acordo com Dhinakar; Jones (1997b), aves infectadas com a cepa Mass M41, tratadas com a droga imunossupressora ciclosporina A, apresentaram sinais clínicos, mortalidade e títulos virais nos tecidos maiores que nas aves não tratadas.

3.10 DIAGNÓSTICO

Como os sinais clínicos da infecção pelo VBI não são específicos da doença, diversos métodos de diagnóstico estão disponíveis e devem ser utilizados para a detecção e identificação do vírus. De forma geral, pesquisa-se o vírus ou parte dele (direto), ou estuda-se a resposta de anticorpos específicos (indireto) (DE WIT, 2000).

De acordo com Cavanagh; Naqi (2003), o conhecimento da patogênese é importante para o sucesso na detecção viral, porém alguns fatores podem interferir e devem ser levados em conta, como o tempo entre o início da infecção e a amostragem, o número de aves amostradas, a escolha dos órgãos e qualidade das amostras, além da genética e *status* imunitário da ave (DE WIT, 2000). Vale lembrar que aves, em estado de portador persistente, podem excretar vírus vacinal ou de campo mais de uma vez, após condição de estresse, dificultando o diagnóstico, já que não indica uma infecção recente (DHINAKAR; JONES, 1997a; DE WIT, 2000).

Uma vez que as cepas de VBI se replicam inicialmente no trato respiratório, suabe e tecido traqueais são colhidos preferencialmente entre os dias 3 e 5 pós-infecção (CAVANAGH; NAQI, 2003). Após esse período, em um estágio crônico, dá-se preferência ao suabe cloacal e tonsilas cecais (COOK, 1984). Pulmões, rins e oviduto

podem ser colhidos de acordo com a história clínica da doença (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003; JONES; JORDAN, 2006).

3.10.1 Diagnóstico direto

Como diagnóstico direto, além da observação através da microscopia eletrônica, utilizam-se os testes de isolamento viral (*virus isolation* – VI), imunofluorescência (*immunofluorescent assay* – IFA), imunoperoxidase (*immunoperoxidase assay* – IPA), precipitação em ágar-gel (*agar-gel precipitation test* – AGPT), ensaio imunoenzimático de absorção em fase sólida de captura (*capture enzyme-linked immunosorbent assay* – C-ELISA) e RT-PCR (CAVANAGH; NAQI, 2003).

O isolamento clássico é um teste caro, trabalhoso e demorado, pois são necessárias várias passagens em embriões de galinha até a observação das alterações morfológicas causadas pelo agente, como nanismo, enrolamento, depósito de uratos nos mesonéfrons e morte embrionária. Por isso, a substituição da técnica por um isolamento curto, que promove a multiplicação do vírus, associada com outra técnica para detecção do antígeno, é cada vez mais utilizada (KOCH et al., 1990; DE WIT, 2000; MEULEMANS et al., 2001; ABDEL-MONEIM et al., 2002; CAVANAGH; NAQI, 2003; LIU; KONG, 2004; COLÁS et al., 2012).

Além da inoculação em ovos embrionados de galinha SPF, o isolamento pode ser realizado em cultura de células e cultura de órgãos traqueais de galinha, para posterior detecção do antígeno (DE WIT, 2000).

No cultivo de células, há necessidade de adaptação do vírus para replicação e indução do efeito citopático, tais como a formação de sincícios e picnose nuclear, cuja sensibilidade é aumentada quando são utilizadas células de rim de embrião de galinha e células de rim de galinha; enquanto que em cultura de órgãos traqueais não há necessidade de adaptação do vírus, sendo observada a ciliostase ao microscópio em 3 a 4 dias após a inoculação (DE WIT, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003).

Para que o material seja considerado negativo são necessárias seis passagens sem causar alteração embrionária (IGNJATOVIC; SAPATS, 2000). Na utilização de OEG SPF entre 9 e 11 dias de incubação, inocula-se o macerado de órgãos infectados na cavidade alantoide, que é colhida após 48-72h para nova inoculação. No uso de TOC, o macerado é propagado em anéis de traqueia de embriões de 20 dias de incubação, mantidas em tubos, cujo sobrenadante é utilizado para nova inoculação (COOK, 1984; DI FÁBIO; ROSSINI, 2000, CAVANAGH; NAQI, 2003).

As várias passagens favorecem o aumento da concentração do vírus para a utilização dos métodos de detecção viral e a adaptação do vírus para utilização em CC é feita através de uma passagem anterior em OEG (NAQI; KARACA; BAUMAN, 1993; DI FÁBIO; ROSSINI, 2000, CAVANAGH; NAQI, 2003).

Após o isolamento do vírus, a identificação pode ser feita diretamente no material infectado através da microscopia eletrônica (ABDEL-MONEIM, 2002, 2005; LIU; KONG, 2004; BAYRY et al., 2005) ou de diversas técnicas que utilizam anticorpos monoclonais ou policlonais, como a imunofluorescência (BHATTACHARJEE; NAYLOR; JONES, 1994; MEULEMANS et al., 2001), imunoperoxidase (DE WIT, 2000), imunohistoquímica (HANDBERG et al., 1999; ABDEL-MONEIM et al., 2009), AGPT (DE WIT, 2000; CUBILLOS et al., 1991; ABDEL-MONEIM et al., 2002; AHMED; NAEEM; HAMEED, 2007) e C-ELISA (NAGANO et al., 1987; NAQI; KARACA; BAUMAN, 1993; IGNJATOVIC; ASHTON, 1996; KOCH et al., 1990; DI et al., 2005).

Técnicas que identificam o ácido nucleico do vírus, denominadas genotipificação, como a RT-PCR (CAVANAGH et al., 2005; BOCHKOV et al., 2006; MOSCOSO et al., 2005; AL-BARWARY; GOREAL, 2012) associadas ao sequenciamento de nucleotídeos (GELB et al., 2005; ABREU et al., 2007), RFLP (WANG; KHAN, 2000; GELB et al., 2005) e hibridização (LEE; BROWN; JACKWOOD, 2002) são eficientes para detecção e identificação do sorotipo e variantes do vírus, além de diferenciar entre cepas de campo e vacinais de forma rápida e sensível, utilizando-se diretamente o material infectado (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000).

3.10.2 Diagnóstico indireto

Através da sorologia, avalia-se de forma indireta o surgimento de imunoglobulinas específicas para o VBI ou a soroconversão, com a sorologia pareada, pelos diversos testes disponíveis (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000).

Alguns fatores dificultam a interpretação dos resultados sorológicos, como: a idade da ave, devido ao grau da resposta imune humoral; presença ou não de anticorpos maternos, que diminui a resposta à vacinação/infecção; nível de imunidade quando da infecção/vacinação; imunossupressão; genética da ave; número de aves amostradas; rota de aplicação do vírus; reações cruzadas entre sorotipos; ocorrência de novos sorotipos, além da falta de padronização dos testes entre diferentes laboratórios (MACDONALD et al., 1981; COOK et al., 1999; DE WIT, 2000; BACON et al., 2004; TORO et al., 2006; BANAT et al., 2013).

O diagnóstico sorológico tem sido utilizado como método mais rápido para identificação de infecção pelo VBI (CARDOSO et al., 2001) e, em aves imunizadas, para avaliação de programas de vacinação (MUÑIZ et al., 2000). Entretanto, testes específicos de grupo não diferenciam sorotipos, pois o antígeno utilizado detecta anticorpos contra vários sorotipos, enquanto testes específicos de tipo diferenciam entre cepas de diferentes sorotipos (DE WIT, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003)

ELISA, IFA e AGPT detectam anticorpos direcionados tanto para os antígenos específicos de grupo, quanto de tipo, portanto não servem para identificar as diferentes cepas do vírus, enquanto SN e HI são específicos de tipo; entretanto, reações cruzadas não os tornam melhores que os testes anteriores (COOK; BROWN; BRACEWELL 1987; CAVANAGH; NAQI, 2003), sendo comumente utilizados os testes de SN, HI e ELISA (DE WIT, 2000).

A prova de SN pode ser realizada utilizando-se OEG SPF (AWAD; SEDIEK; EL-YAMANY, 2014), CC (DARBYSHIRE; COOK; PETERS, 1976; BHATTACHARJEE; JONES, 1997) ou TOC (COOK, 1984; EPIPHANIO et al., 2002) e detecta anticorpos altamente específicos, dirigidos contra determinantes antigênicos da fração proteica S1, por isso

é prova sorotipo específica (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000), mas, de acordo com De Wit et al. (1997), não é utilizada na rotina por ser laboriosa e cara. Também tipo específica, a prova de HI necessita de tratamento prévio do vírus através da fosfolipase tipo C, já que este não é hemaglutinante, além de requerer cuidados na interpretação devido à alta ocorrência de reações cruzadas (MOCKETT; DARBYSHIRE, 1981; COOK; BROWN; BRACEWELL, 1987; DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; AHMED; NAEEM; HAMEED, 2007).

Apesar de ser de baixo custo e rápido, o AGPT apresenta baixa sensibilidade (CUBILLOS et al., 1991; ABDEL-MONEIM et al., 2002) e devido à curta vida dos anticorpos precipitantes, sua detecção indica infecção recente (DE WIT et al., 1997), enquanto que o IFA, apesar de também ser um teste rápido e relativamente barato, requer um microscópio ultravioleta (DE WIT, 2000). Testes de ELISA indireto permitem a detecção e titulação de anticorpos em grande quantidade de soros ao mesmo tempo (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000), sendo observados em uma semana após infecção/vacinação (MOCKETT; DARBYSHIRE, 1981), seguidos pela detecção através de AGPT, HI e VN (DE WIT et al., 1997), o que demonstra sua maior sensibilidade (MOCKETT; DARBYSHIRE, 1981).

Considerado específico de grupo, o emprego de Mabs nos testes ELISA aumenta a especificidade, sendo comparado à VNT, que é altamente sensível e específico, possibilitando especificar o sorotipo do vírus (KOCH et al., 1990; CAVANAGH; NAQI, 2003). Cardoso et al. (1999) demonstraram, através do teste de Elisa com bloqueio de fase líquida, sensibilidade de 88% e 100% de especificidade na detecção de anticorpos, além de 95,3% de concordância com o teste de soroneutralização (SNT).

Rocha (2000) produziu Mabs anti S1 de M41 e testou, através de ELISA, com amostras de referência e 8 isolados de campo de surtos de MG, que reagiram com apenas 2 isolados (cepa Mass), indicando que as outras cepas pertencem a outro sorotipo. Do mesmo modo, Souza; Martins; Resende (2001) utilizando a mesma técnica, com Mabs em 14 amostras de surto ocorrido em MG, verificaram a eficiência do ELISA em avaliar as afinidades antigênicas de três amostras com a cepa M41, além de diferenças dentro do mesmo sorotipo.

Cardoso et al. (2001) testaram três tipos de ELISA e compararam com o teste padrão de soroneutralização e constataram especificidade satisfatória, porém a exata interpretação dos resultados sorológicos, através da sorotipagem, ainda é necessária.

Diversos testes de ELISA estão disponíveis no mercado, através de kit's comerciais, e são amplamente utilizados como indicador de imunidade humoral (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000), sendo utilizados para o monitoramento de desafios de campo e de *status* imunitário, a fim de determinar os programas de vacinação (CARDOSO et al., 1996, 1999; ZHANG et al., 2005; AL-BARWARY; GOREAL, 2012).

3.11 PREVENÇÃO E CONTROLE

O controle da BIG, na avicultura mundial, tem sido realizado através de medidas de biossegurança e manejo, que incluem o uso de vacinas, como meios de prevenir a entrada e disseminação da doença. Como a principal via de disseminação do vírus é aerógena, medidas como o isolamento da granja, limpeza, desinfecção e vazio sanitário de galpões, alojamento de lotes com idade única, controle do fluxo de pessoas e veículos, banho e troca de roupa são de grande importância. Porém, em granjas com múltiplas idades e em áreas altamente povoadas, esse manejo é mais complicado (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; CAVANAGH; NAQI, 2003; CAVANAGH, 2007).

De acordo com Bochkov et al. (2006), a criação de aves de diferentes finalidades e idades, numa mesma exploração avícola, pode favorecer o surgimento de novas variantes do VBI que contribuem para a alta diversidade genética. Além disso, resultam em alteração do tropismo tecidual e patogenicidade do vírus, gerando novos patótipos (AWAD; SEDIEK, EL-YAMANY, 2014).

Para a imunização contra o VBI, são utilizadas vacinas vivas atenuadas e inativadas, cujo processo de atenuação é realizado através de sucessivas passagens

da cepa em OEG (CAVANAGH; NAQI, 2003).

Em frangos de corte são utilizadas vacinas vivas atenuadas, aplicadas em pintos de um dia ainda no incubatório, porém com proteção de curta duração para o sistema respiratório (MOCKETT; COOK; HUGGINS, 1987; CAVANAGH, 2003). Em regiões onde a vacinação não oferece proteção contra os desafios de campo, faz-se uso da revacinação com 2 a 3 semanas de intervalo, utilizando a mesma vacina, outra vacina do mesmo sorotipo ou vacina com sorotipo heterólogo (COOK et al., 1999; CAVANAGH; NAQI, 2003; CAVANAGH, 2007), sendo observado aumento na proteção de 50% para 90% a 100% quando comparado com apenas uma dose (CAVANAGH, 2003).

Em matrizes e poedeiras comerciais, uma primo-vacinação é realizada com a vacina viva atenuada aplicada aos 15 dias de idade (CAVANAGH; NAQI, 2003) para posterior reforço com a vacina inativada oleosa, aplicada antes do início da fase de postura (BOX; ELLIS, 1985; BOX et al., 1988). Porém, a depender do desafio de campo, vacinas vivas podem ser periodicamente aplicadas durante o período de postura, fornecendo proteção local no sistema respiratório (DE WIT; COOK; VAN DER HEIJDEN, 2010).

Vacinas vivas são administradas principalmente através de métodos de aplicação em massa, por pulverização (*spray*) ou água de bebida, que apesar de ser um método prático para imunização de grande quantidade de aves simultaneamente, pode não fornecer uniformidade na aplicação. Entretanto, podem também ser dadas individualmente, através da instilação ocular, nasal ou injeção via ovo (CAVANAGH; NAQI, 2003), enquanto que vacinas inativadas oleosas são administradas individualmente via injeção subcutânea ou intramuscular (SALLE; SILVA, 2000).

Conforme demonstrado por Song et al. (1998b), a aplicação de vacina inativada sem a primo-vacinação com a vacina viva atenuada, não oferece proteção contra o desafio com cepa homóloga, mesmo com o aumento da dose vacinal. Avaliando Ig de pintos oriundos de matrizes vacinadas e não vacinadas, através de HI e ELISA, Balasubramaniam et al. (2013a) verificaram títulos maiores na primeira semana no

grupo vacinado, que decaíram para níveis abaixo dos de proteção na segunda semana.

De forma ideal, as cepas vacinais devem representar os isolados de um país ou região (SONG et al., 1998a; ABREU et al., 2010; BALASUBRAMANIAM et al., 20013b) que, segundo Awad; Sediek; El-Yamany (2014), é necessário para o controle da doença. A diversidade de sorotipos com pouca ou nenhuma proteção cruzada faz o controle extremamente difícil (JACKWOOD; HALL; HANDEL, 2012) e surtos da doença continuam a ocorrer, mesmo em plantéis vacinados (LIU; KONG, 2004). Por isso, de acordo com Bouqdaqui et al. (2005), o sequenciamento, a comparação com cepas de referência e testes de proteção cruzada são necessários para o conhecimento da origem de novos isolados e futuro controle da doença.

Apesar disso, em muitos países, inclusive no Brasil, a única vacina permitida para o uso é do sorotipo Mass, porém estudos indicam inadequada proteção contra as variantes brasileiras (COOK et al., 1999; DI FABIO et al., 2000; CHACÓN et al., 2011). Fernando et al. (2013) investigaram a patogenicidade e tropismo tecidual de uma cepa variante brasileira e a proteção induzida pela cepa vacinal Mass e verificaram que a vacina induziu proteção parcial nos tecidos da traqueia e rins, sendo caracterizada como cepa nefropatogênica.

Do mesmo modo, Abdel-Moneim et al. (2002) verificaram que a cepa Egypt/Beni-Seuf/01 isolada no Egito, em frangos de corte de 38 dias de idade com sintomas respiratórios e renais, causou lesões histopatológicas na traqueia e rins, comprovando que a cepa vacinal H120 não forneceu proteção contra o desafio com esta cepa nefropatogênica. Através da microscopia eletrônica, AGPT e RT-PCR, verificou-se tratar de um novo genótipo no país, com baixa similaridade (63,5%) na sequência do gene S1.

Apesar da implementação das medidas de controle e práticas de biossegurança, surtos da doença continuam a afetar a avicultura intensiva (COLÁS et al., 2012) e o monitoramento é essencial para acompanhar o surgimento de novas variantes e desenvolver estratégias de vacinação eficientes para o controle e prevenção da BIG

(AMMAYAPPAN et al., 2008). O monitoramento dos programas vacinais, através de provas sorológicas, visa estabelecer o nível de anticorpos esperados para avaliar o programa vacinal utilizado, qualidade do método de aplicação, além de detectar possíveis desafios de campo (SALLE; SILVA, 2000; SANTOS; SILVA, 2000)

A imunidade do frango para VBI geralmente é duradoura e protege contra o desafio com cepas do mesmo sorotipo, após vacinação inicial com vírus vivo ou infecção natural, porém, a magnitude e a duração da resposta à vacinação dependem de muitos fatores, tais como níveis de imunidade materna, idade do pinto, imunogenicidade da vacina, método de aplicação da vacina, virulência do desafio das cepas de campo, intervalo entre a vacinação e desafio e a imunocompetência do hospedeiro. Portanto, a correta e cuidadosa aplicação da vacina é essencial para otimizar o estímulo de todos os tipos de imunidade protetora (BIJLENGA et al., 2004).

Em um monitoramento de rotina, respostas pobres de anticorpos pós-vacinação podem ser devido a fatores relacionados com a aplicação da vacina, tais como armazenamento e dose inadequados, competências do vacinador, número de vacinas aplicadas, rota de aplicação, pobre qualidade da água, falha nos equipamentos de pulverização; relacionados com a vacina, como a concentração de antígeno, virulência da cepa vacinal, natureza e qualidade dos adjuvantes ou relacionados com a fisiologia e *status* imunitário das aves, através de doenças imunossupressoras, como por exemplo a doença infecciosa bursal (IBDV), doença de marek (MDV), anemia infecciosa das galinhas (CIAV), adenovírus e outras doenças, assim como estresse e infecções bacterianas secundárias (DHINAKAR; JONES, 1997a; CAVANAGH; NAQI, 2003; TURBLIN, 2010).

ARTIGO

Artigo a ser submetido ao comitê editorial do periódico científico Ciência Rural.

1 **Títulos de anticorpos para bronquite infecciosa das galinhas segundo protocolos de**
2 **vacinação em frangos de corte.**

3

4 **Titers of antibodies to infectious bronchitis second vaccination protocols in broilers.**

5

6 MAIER, Isabel^I; CAVALCANTE, Ana Karina da Silva^{II*}; FERNANDES, Lia Muniz
7 Barreto^{III}; MASCARENHAS, Maria Tereza Vargas Leal^{IV}

8 ^IAgência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia – ADAB, Feira de Santana, Bahia,
9 Brasil.

10 ^{II*}Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e
11 Biológicas, Cruz das Almas, Bahia, Brasil

12 ^{III}Universidade Federal da Bahia, Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia, Departamento
13 de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal, Salvador, Bahia, Brasil

14 ^{IV}União Metropolitana para Educação e Cultura – UNIME, Lauro de Freitas, Bahia, Brasil

15 *Autor para correspondência: karina@ufrb.edu.br

16

17 **RESUMO:** A Bronquite Infecciosa das Galinhas (BIG) é uma doença viral altamente
18 contagiosa que causa grandes prejuízos à indústria avícola, sendo a vacinação o principal
19 método de prevenção da doença. Visando mensurar, através da técnica de ensaio
20 imunoenzimático de absorção em fase sólida (ELISA) indireto, os títulos de anticorpos contra
21 o vírus da BIG em frangos de corte, aos 14 dias e aos 40 dias, e comparar com os protocolos
22 vacinais utilizados, foram analisadas amostras de soro sanguíneo de 2420 aves, coletadas
23 entre agosto de 2014 e abril de 2015, em 55 propriedades no pólo avícola de Feira de Santana

24 - Bahia. Foram detectados títulos de anticorpos com valores extremos, variando de 1 a
25 5935 e elevado coeficiente de variação (CV=152,1% aos 14 dias e 185,1% aos 40 dias),
26 porém os baixos valores de média geométrica dos títulos não sugerem circulação de vírus
27 durante o período do estudo. O alto CV demonstrou não uniformidade da resposta vacinal,
28 bem como baixa soroconversão entre as coletas, mesmo com a utilização de duas doses de
29 reforço a campo. Sintomatologia respiratória foi observada em 30,9% das aves, sendo a
30 mortalidade superior a 3,00% verificada em 78,18% das propriedades. O presente estudo
31 demonstrou que, apesar de variados esquemas vacinais empregados, pelas empresas e
32 produtores particulares, a resposta humoral não alcançou títulos adequados de anticorpos,
33 porém sintomatologia respiratória e mortalidade fora dos padrões considerados aceitáveis
34 sugerem que outras enfermidades podem estar circulando na região ou ainda falhas de
35 biosseguridade estejam ocorrendo e devem ser investigadas.

36

37 **PALAVRAS-CHAVE: Bronquite infecciosa das galinhas, ELISA indireto, titulação de**
38 **anticorpos**

39

40 **ABSTRACT:**

41 Infectious bronchitis (IB) is a highly contagious viral disease that causes extensive damage to
42 the poultry industry, with vaccination being the primary method of disease prevention.
43 Aiming to measure, by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), antibody titers
44 against the virus of IB in broilers at 14 days and at 40 days, and compare those with the
45 vaccination schedules used, serum samples from 2420 birds were analyzed, collected from
46 August 2014 and April 2015 in 55 properties in poultry producing area of Feira de Santana –
47 Bahia. Antibody titers were detected with extreme values ranging 1-5935 and high coefficient

48 of variation (CV = 152.1% at 14 days and 185.1% at 40 days), but the low geometric mean
49 titers values do not suggest virus circulation during the period study. The high CV showed
50 non-uniformity of the vaccine response, and lack of seroconversion between samplings, even
51 with the use of two booster doses field. Respiratory symptoms were observed in 30.9% of the
52 birds, with the rate exceeding 3.00% reduction in 78.18% of properties. The present study
53 demonstrated that despite various vaccination schedules used, the humoral response did not
54 achieve adequate antibody titers, but respiratory symptoms and mortality outside acceptable
55 considered patterns suggest that other illnesses may be circulating in the region or failures
56 management are taking place and should be investigated.

57 **KEYWORDS: Infectious bronchitis, indirect ELISA, titration of antibodies**

58

59 **INTRODUÇÃO**

60 Uma das principais doenças respiratórias da avicultura mundial, a Bronquite Infecciosa das
61 Galinhas (BIG) causa prejuízos à indústria avícola através da baixa eficiência alimentar com
62 consequente perda de peso, diminuição da produção e qualidade dos ovos, podendo causar
63 alta mortalidade em aves jovens (CAVANAGH & NAQI, 2003). Causada por um vírus RNA
64 do gênero *Coronavírus*, família Coronaviridae e ordem Nidovirales (CAVANAGH, 2003), é
65 altamente contagiosa e acomete principalmente o sistema respiratório, podendo infectar outros
66 órgãos, como o sistema intestinal e urogenital (DI FÁBIO & ROSSINI, 2000; BIJANZAD et
67 al., 2013).

68 Distribuído mundialmente, o vírus foi isolado em diversos países da América do Norte
69 (AMMAYAPPAN et al., 2008), América do Sul (CUBILLOS et al., 1991), Europa (COOK et
70 al., 1999), Ásia (AL-BARWARY & GOREAL, 2012) África (AWAD et al, 2014) e Oceania
71 (CHOUSALKAR et al, 2010). No Brasil, há evidências de que a doença ocorra em todo o país

72 (BALESTRIN et al., 2014).

73 Devido à característica altamente transmissível e a via aerógena como principal via de
74 disseminação, a prevenção e controle da doença são realizados pela adoção de vacinação e
75 medidas de biossegurança (CAVANAGH, 2007). No Brasil, o único sorotipo permitido para
76 uso em vacinas é o Massachusetts (Mass) e estudos de desafio indicam inadequada proteção
77 deste sorotipo contra algumas cepas variantes (COOK et al., 1999; DI FABIO et al., 2000;
78 MONTASSIER, 2010; CHACÓN et al., 2011).

79 Técnica de ELISA indireto é amplamente utilizada para o monitoramento de desafios de
80 campo e de *status* imunitário, possibilitando avaliar os programas de vacinação (CHEN et al.,
81 1996; CARDOSO et al., 1996, 1999; ZHANG et al., 2005; AL-BARWARY; GOREAL,
82 2012). Almeida et al. (2015) verificaram frequência maior de positividade (75%) ao ELISA
83 do que no RT-PCR (62,5%).

84 Dentre os estados do Nordeste, a Bahia se destaca como segundo maior produtor de carne de
85 frango (ABA, 2011), sendo que a microrregião de Conceição da Feira participa com 70% de
86 produção (SANTOS & TEIXEIRA, 2010). Estudo no polo avícola da Bahia identificou, por
87 meio de RT-PCR e nested PCR, a cepa H120 do sorotipo Mass, demonstrando a circulação do
88 vírus vacinal na região (HERVAL, 2011). Considerando a importância da vacinação como
89 principal método de prevenção desta doença, objetivou-se mensurar os títulos de anticorpos
90 para BIG nas idades de 14 e 40 dias e comparar os protocolos vacinais utilizados em
91 propriedades do município de Conceição da Feira, a fim de avaliar os programas de prevenção
92 e controle da enfermidade na região.

93

94 MATERIAL E MÉTODOS

95 As propriedades amostradas pertencem a empresas integradoras que atuam no município,

96 além de cinco produtores independentes, totalizando 55 (Tabela I). As coletas de amostras
97 foram realizadas no período de agosto de 2014 a abril de 2015, sendo levantadas informações
98 relativas ao protocolo de vacinação, histórico clínico e mortalidade, através de consulta à
99 ficha de acompanhamento do lote.

100 De acordo com a TECSA® (Tecnologia em Sanidade Animal), laboratório credenciado pelo
101 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, recomenda-se a coleta de 22 amostras
102 para monitoria do estado pós vacinal. Sendo assim, coletou-se amostras de sangue por meio
103 da punção da veia ulnar da asa de 1210 aves com 14 dias e com 40 dias, dentro de um mesmo
104 lote, totalizando 2420 amostras e os soros sanguíneos obtidos foram armazenados em freezer
105 a -20°C.

106 As amostras foram analisadas no Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia (LASAB), com
107 controle positivo e negativo, seguindo as instruções do *kit* comercial de ELISA indireto,
108 IDEXX FlockChek (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, USA).

109 Para a interpretação dos resultados, as propriedades foram organizadas em três grupos, de
110 acordo com o protocolo vacinal. No grupo 1 estão as propriedades que realizaram vacinação
111 nas aves apenas no incubatório. No grupo 2 estão as que fizeram uma dose de reforço a
112 campo, que varia de 15 a 20 dias de idade e o grupo 3 realizou duas doses de reforço da
113 vacina a campo, em idades variadas, sendo utilizadas as cepas H120, B48, Ma5, do sorotipo
114 Mass. Os protocolos de vacinação estão demonstrados na Tabela II.

115 Os sinais clínicos foram classificados em: sem sinais, sinais respiratórios e outros sinais e
116 caracterizou-se como sinais respiratórios a observação de estertores (ronqueira), espirros e
117 narina suja (CAVANAGH & NAQI, 2003). Foram consideradas altas taxas de mortalidade
118 acima de 3%, pois, de acordo com Bellaver et al. (2003), são consideradas adequadas quando
119 são inferiores a 3% por lote.

120

121 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

122

123 É prática corrente na região a imunização das aves com um dia de idade ainda no incubatório,
124 com vacina viva atenuada através de *spray*, porém algumas granjas realizam reforço a campo,
125 com uma ou duas doses, através da água de bebida.

126 A presença de títulos de anticorpos era esperada em função da vacinação, tanto no
127 incubatório, quanto a campo pois, de acordo com Cavanagh (2003), anticorpos são detectáveis
128 5 dias após a vacinação ou infecção e declinam depois de 21 dias. Além disso, títulos
129 desejáveis, segundo a tabela IDEXX, devem se encontrar na faixa de 1000 a 4000.

130 No entanto, foram detectados baixos percentuais de títulos nas idades de 14 e 40 dias, além de
131 poucas amostras com títulos dentro da faixa desejável em todos os grupos o que demonstra
132 resposta imunológica insatisfatória (Tabelas III e IV). Herval (2011) também verificou baixos
133 percentuais de títulos detectáveis ao ELISA em pesquisa no polo avícola da Bahia.

134 A GMT, que significa a Média Geométrica dos Títulos de anticorpos detectados, permite
135 avaliar a resposta sorológica geral dos animais amostrados e, de acordo com Vineza (2005),
136 fornece resultado mais correto da resposta imunológica do lote e deve ser analisada com
137 outros resultados estatísticos. No entanto, os grupos apresentaram valores de GMT abaixo da
138 faixa considerada desejável.

139 As aves do grupo 1 não receberam reforço de vacina a campo e os títulos encontrados
140 referem-se à resposta da vacina no incubatório. Porém, entre as empresas deste grupo houve
141 divergência no percentual de títulos detectáveis e na GMT, tanto aos 14 dias (10,61% e
142 119,13 para empresa A e 1,40% e 19,86 para empresa D, respectivamente), quanto aos 40 dias
143 (9,09% e 129,11 para empresa A e 3,15% e 24,86 para empresa D, respectivamente),

144 demonstrando diferentes respostas a um mesmo protocolo vacinal.

145 O grupo 2, recebeu uma dose de reforço a campo, porém, no momento da coleta de amostra
146 aos 14 dias, ainda não havia recebido. Entretanto, os títulos máximos e a GMT apresentaram
147 valores superiores aos do grupo 1. As aves do grupo 3, quando da coleta aos 14 dias, já
148 haviam sido vacinadas a campo, no entanto, não houve aumento significativo na GMT, apesar
149 de Cavanagh (2007) afirmar que, em um segundo desafio, as respostas de IgM e IgG ocorrem
150 ao mesmo tempo.

151 Afifi et al. (2015) testaram, através de ELISA, a proteção da vacina Mass H120 contra duas
152 cepas variantes no Egito e encontraram títulos de anticorpos em aves vacinadas com uma dose
153 (1 dia) de 2339 aos 14 dias e de 2909 aos 28 dias de idade, enquanto que aves vacinadas com
154 duas doses da mesma vacina com 1 e 14 dias apresentaram títulos de 2339 aos 14 dias e de
155 3435 aos 28 dias, demonstrando altos títulos e soroconversão, dados que divergem da média
156 dos títulos encontrada neste trabalho. Vale ressaltar que, apesar dos títulos altos encontrados
157 pelo autor citado, a vacina não forneceu proteção contra as cepas desafio.

158 Na Tailândia, Sarueng et al. (2014) testaram a eficácia de quatro programas vacinais, que
159 incluíam vacinação com 1 dia e com 1 e 14 dias, frente ao desafio da cepa QX-like e
160 verificaram aumento dos títulos nos grupos que receberam a vacina com 1 e 14 dias, e aos 42
161 dias, os títulos eram significativamente mais altos que o grupo vacinado apenas com 1 dia de
162 idade. Melhores resultados foram observados com revacinação com cepa heteróloga.

163 No entanto, no grupo 2 aos 40 dias, observou-se diminuição da GMT após uma dose de
164 reforço, sendo que as empresas B e C apresentaram diminuição da GMT, enquanto que os
165 independentes F1 e F2 apresentaram aumento na GMT, o que era esperado com o estímulo
166 vacinal. O grupo 3, após duas doses de reforço, apresentou aumento inexpressivo na GMT,
167 sendo que a empresa E apresentou diminuição da GMT e os independentes F3, F4 e F5

168 apresentaram aumento na GMT, porém, apenas F5 atingiu a faixa de títulos desejáveis para
169 uma satisfatória resposta vacinal.

170 Xie et al. (2011) testaram três esquemas de vacinação na China: a) sorotipo Mass e a cepa
171 W93 nefropatogênica em uma dose aos 5 dias; b) o mesmo sorotipo aos 5 e 10 dias e c) a
172 mesma vacina aos 5 dias e uma vacina inativada YL6 aos 10 dias, que forneceu 100% de
173 proteção contra o desafio. Não foi observada discrepância nos títulos entre os grupos, mas
174 houve lenta ascensão, alcançando níveis elevados 10 dias após a segunda vacinação, portanto,
175 era esperado aumento de títulos após dose de reforço a campo. Segundo Alazawy (2013), a
176 uniformidade na administração de vacinas é medida pelo Coeficiente de Variação (CV) dos
177 títulos, sendo considerada excelente quando é menor que 30%, enquanto maior que 80%
178 indica uniformidade ruim. Este autor, ao comparar títulos de anticorpos aos 3 e aos 25 dias de
179 idade em aves vacinadas com H120 aos 3 dias, verificou que o CV dos anticorpos maternos se
180 encontrava na faixa de 30%, com média de títulos de 8331,1, sugerindo boa uniformidade,
181 enquanto que aos 25 dias apresentaram média de 372, com alto CV, sugerindo incompleta ou
182 não uniforme administração da vacina. No presente trabalho, as médias do CV e de GMT
183 foram de 152,1% e 56,9, respectivamente aos 14 dias, sendo encontrado aos 40 dias, 185,1% e
184 52,41. Todos os grupos apresentaram elevado CV, acima de 120%, demonstrando
185 desuniformidade dos títulos vacinais que, segundo Vineza (2005), sugere a ocorrência de
186 possíveis falhas no processo de vacinação.

187 Aos 14 dias, observou-se título máximo elevado de 4596 na empresa E do grupo 3, porém em
188 apenas uma ave, com GMT de 234,82 e, aos 40 dias, títulos máximos acima de 5000 em duas
189 aves, sendo uma na empresa B, com GMT de 98,62 e outra ave no independente F5, com
190 GMT de 1082,6, títulos que não sugerem infecção do lote pois, no Ceará, Salles et al. (2003)
191 relataram alta variação nos títulos de anticorpos entre duas coletas em um mesmo lote, sem

192 vacinação entre as coletas, indicando desafio de campo em 62,5% das 8 empresas de
193 poedeiras comerciais.

194 Em estudo com galinhas de quintal no RS, Santos et al. (2008) encontraram prevalência de
195 65,7%, que evidencia a circulação viral, sendo considerada um risco à introdução da doença
196 no plantel comercial, já que a vacinação não é realizada para este tipo de ave.

197 A observação de sinais respiratórios e mortalidade acima do considerado adequado para um
198 lote pode ser sugestivo de infecção por BIG. O percentual de mortalidade aos 14 dias foi de
199 1,76% para o grupo 1, enquanto que para o grupo 2 foi de 2,03%, entretanto sinais
200 respiratórios não foram observados. Para o grupo 3, percentual de 1,32% com sinais
201 respiratórios em duas propriedades, que podem ser atribuídos a reações vacinais (JAENISCH,
202 2003), já que neste grupo as aves haviam recebido a primeira dose de vacina quando da
203 primeira coleta.

204 Aos 40 dias, sinais respiratórios foram observados em seis propriedades do grupo 1, oito no
205 grupo 2 e três no grupo 3, com percentuais de mortalidade de 5,54%, 4,45% e 2,90%,
206 respectivamente, porém com baixos valores de GMT. Uma propriedade da empresa A
207 apresentou 15,92% de mortalidade e sinais respiratórios, embora o título máximo de 648 e
208 GMT de 129,11 não permitem atribuir os sinais respiratórios e mortalidades acima do
209 esperado como consequências da bronquite infecciosa.

210 Em Cuba, Acevedo et al. (2010) ao analisarem títulos de anticorpos em aves de postura com
211 sinais respiratórios que receberam 3 doses de vacina (nos dias 1; 35 e 85), verificaram que
212 após 13 meses da última vacinação as aves estavam com títulos elevados, assim como Herval
213 (2011), em estudo no polo avícola de Feira de Santana, encontrou frangos de corte com sinais
214 respiratórios, títulos individuais acima de 5000 e lotes com GMT próximo a este valor, além
215 de 86,11% de frequência dos títulos em galinhas de quintal não vacinadas, indicando a

216 circulação do vírus na região.

217 Apesar dos baixos títulos encontrados, que evidenciam resposta imunológica insatisfatória aos
218 três protocolos vacinais, não é possível afirmar que as aves estavam desprotegidas, já que a
219 imunidade local tem importante papel no desenvolvimento da imunidade protetora, pois
220 estimula a produção de anticorpos locais no sistema respiratório superior, principal porta de
221 entrada para infecção (DHINAKAR & JONES, 1997; AFIFI et al., 2015). O desenvolvimento
222 desta imunidade local justifica o método de aplicação da vacina em massa realizada no
223 incubatório, via *spray*, entretanto, existem poucos estudos sobre anticorpos locais
224 (CAVANAGH, 2003). A vacinação a campo, realizada através da água de bebida confere
225 rapidez e economia, porém falhas vacinais podem ocorrer, promovendo vacinação incompleta
226 e desuniforme no lote (CAVANAGH & NAQI, 2003).

227 Programas de vacinação são de grande importância dentre as medidas de biossegurança e
228 vacinas que conferem alta proteção podem perder efetividade devido a falhas cometidas no
229 processo de vacinação (SESTI, 2000), sendo o monitoramento essencial para identifica-las
230 (AMMAYAPPAN et al., 2008). Um programa de vacinação adequado varia de acordo com a
231 região e necessidades do plantel (MATEUS & SANTOS, 2011).

232 Diversos fatores relacionados à vacina, à aplicação e a resposta da ave podem interferir na
233 resposta vacinal adequada. A concentração do antígeno, virulência da cepa, natureza e
234 qualidade dos adjuvantes são alguns fatores relacionados à vacina. Cuidados com a
235 conservação, prazo de validade, dose e rota de aplicação, higienização das ferramentas
236 utilizadas na vacinação, como pulverizadores e bebedouros, além da qualidade da água devem
237 ser levados em consideração. A variação da resposta imune humoral pode estar relacionada
238 com a presença de anticorpos maternos, idade do pinto, doenças ou substâncias
239 imunossupressoras, bem como estresse e infecções bacterianas secundárias (DHINAKAR &

240 JONES, 1997; CAVANAGH & NAQI, 2003; BIJLENGA et al., 2004; AHMED et al.,
241 2007; TURBLIN, 2010).

242 Apesar dos títulos encontrados no presente trabalho não indicarem circulação do vírus no
243 momento da coleta de amostras, sinais respiratórios e mortalidade acima do esperado devem
244 ser investigados. O monitoramento das respostas vacinais e medidas de biossegurança são
245 essenciais para o controle, evitando que surtos da doença ocorram no plantel avícola
246 comercial.

247

248 AGRADECIMENTOS

249 À Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB), Associação Baiana de
250 Avicultura (ABA) e Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia (LASAB).

251

252 Este trabalho foi submetido à CEUA da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
253 (UFRB) e autorizado de acordo com o processo de nº 23007.0007602/2014-37.

254

255 REFERÊNCIAS

256

257 ABA. ASSOCIAÇÃO BAIANA DE AVICULTURA. **Perfil Avícola da Bahia**. 2011.

258 Disponível em: <http://www.avicultura.ba.com.br/aba/>. Acessado em: 25 ago. 2014.

259 ACEVEDO, A. M.; BURGHER, Y.; COLÁS, M.; RELOVA, D.; CORREA, A.;

260 BACALLAO, E.; NODA, J. Detección en muestra clínica e identificación de aislados del

261 virus de la bronquitis infecciosa aviar por un ensayo de reverso transcripción acoplado a

262 reacción en cadena de la polimerasa. **Revista Salud Animal**, v. 32, n. 2, p. 112-117, 2010.

263 AFIFI, M. A.; ZAKI, M. M.; ZOELFOKKAR, S. A.; ABO-ZEID, H. H. Evaluation of

- 264 spectrum of protection provided against two infectious bronchitis isolates using classical
265 livevaccine. **Life Science Journal**, v. 12, n. 2, p. 91-98, 2015.
- 266 AHMED, Z.; NAEEM, K.; HAMEED, A. Detection and Seroprevalence of Infectious
267 Bronchitis Virus Strains in Commercial Poultry in Pakistan. **Poultry Science**, v. 86, p. 1329-
268 1335, 2007.
- 269 ALAZAWY, A. Serological study by using the elisa technique to identification of avian
270 infectious bronchitis disease among some fields of broiler chickens in diyala province. **Diyala**
271 **Agricultural Sciences Journal**, v. 5, n. 2, p. 25-37, 2013.
- 272 AL-BARWARY, D. A. M.; GOREAL, A. A Diagnosis of Infectious Bronchitis Disease in
273 Broiler Chickens by Serological test (ELISA) and RT-PCR in Duhok. **International Journal**
274 **of Animal and Veterinary Advances**, v. 4, n. 1, p. 71-75, 2012.
- 275 ALMEIDA, D. O.; TORTELY, R.; NASCIMENTO, E. R.; KHAN, M.; PEREIRA, V. L. A.;
276 BABAPOOR, S. Uso das técnicas de RT-PCR e ELISA no diagnóstico da bronquite
277 infecciosa em frangos de corte ao abate. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37,
278 n. 1, p. 55-59, 2015.
- 279 AMMAYAPPAN, A.; UPADHYAY, C.; GELB, J., Jr.; VAKHARIA, V. N. Complete
280 genomic sequence analysis of infectious bronchitis vírus Ark DPI strain and its evolution by
281 recombination. **Virology Journal**, v. 5, p. 157, 2008. Disponível em:
282 <http://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-5-157>. Acessado em: 08 Jul.
283 2015.
- 284 AWAD, A. M.; SEDIEK, M. E.; EL-YAMANY, M. E. Isolation and molecular
285 characterization of novel IBV isolates from broiler chicken farms in Egypt. **Alexandria**
286 **Journal of Veterinary Sciences**, v. 42, p. 74-82, 2014.
- 287 BALESTRIN, E.; FRAGA, A. P.; IKUTA, N.; CANAL, C. W.; FONSECA, A. S. K.;

- 288 LUNGR, V. R. Infectious bronchitis virus in different avian physiological systems -A field
289 study in Brazilian poultry flocks. **Poultry Science**, v. 93, p. 1922-1929, 2014.
- 290 BELLAVER, C.; COSTA, C. F.; FIGUEIREDO, E. A. P.; JAENISCH, F. R. F.; FÁVERO, J.
291 A.; PALHARES, J. C. P.; FIORENTIN, L.; BRUM, P. A. R.; ABREU, P. G.; ÁVILA, V. S.
292 Boas práticas de produção de frangos. Concórdia: Embrapa, 2003. 12p. **Circular técnica**, 38.
- 293 BIJANZAD, P., MOMAYEZ, R., BOZORGMEHRIFARD, M. H., HABLOVARID, M. H.;
294 MAHMOODZADEH, M.; MOGHADDAM, A. R. J.; KABOLI, K.; AZIZPOUR, A.;
295 ESHARATABADI, F. Clinical evaluation of SPF chickens infected with 793/B serotype of
296 Infectious Bronchitis vírus. **European Journal of Experimental Biology**, v. 3, n. 2, p. 226-
297 230, 2013.
- 298 BIJLENGA, G.; COOK, J. K. A.; GELB, J. Jr.; DE WIT, J. J. Development and use of the H
299 strain of avian infectious bronchitis virus from the Netherlands as a vaccine: a review. **Avian**
300 **Pathology**, v. 33, n. 6, p. 550-557, 2004.
- 301 CARDOSO, T. C.; MONTASSIER, H. J.; GALLETI, M. C. M.; PINTO, A. A. Evaluation
302 of na inderect ELISA method for the detection of chicken antibodies against infectious
303 bronchitis vírus. **Revista de Microbiologia**, v. 27, n. 1, p. 64-69, 1996.
- 304 CARDOSO, T. C.; SOUSA, R. L. M.; OLIVEIRA, C.; STRINGHINI, G.; PINTO, A. A. A
305 liquid phase blocking ELISA for the detection of antibodies against infectious bronchitis
306 vírus. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 6, p. 747-752, 1999.
- 307 CAVANAGH, D. Severe acute respiratory syndrome vaccine developent: experiences of
308 vaccination against avian infectious bronchitis Coronavirus. **Avian Pathology**, v. 32, n. 6, p.
309 567-582, 2003.
- 310 CAVANAGH, D.; NAQI, S. Infectious bronchitis. In: BARNES, H. J.; FADLY, A.M.;

- 311 GLISSON, J. R.; McDOUGALD, L. R.; SWAYNE, D. E. (Eds), **Diseases of Poultry**,
312 11th. ed. Ames: Iowa State University Press, 2003. p. 101-119.
- 313 CAVANAGH, D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. **Veterinary Research**, v. 38,
314 p. 281-297, 2007.
- 315 CHACÓN, J. L.; RODRIGUES, J. N.; ASSAYAG JÚNIOR, M. S.; PELOSO, C.;
316 PEDROSO, A. C.; FERREIRA, A. J. P. Epidemiological survey and molecular
317 characterization of avian infectious bronchitis virus in Brazil between 2003 and 2009. **Avian**
318 **Pathology**, v. 40, n. 2, p. 153-162, 2011.
- 319 CHEN, B. Y.; HOSI, S.; NUNOYA, T.; ITAKURA, C. Histopathology and
320 immunohistochemistry of renal lesions due to infectious bronchitis virus in chicks. **Avian**
321 **Pathology**, v. 25, n. 2, p. 269-283, 1996
- 322 CHOUSALKAR, K. K.; CHEETHAM, B. F.; ROBERTS, J. R. Detection of infectious
323 bronchitis virus strain N1/88 from the oviduct and feces of experimentally infected vaccinated
324 and unvaccinated hens. **Poultry Science**, v. 89, p. 1603-1608, 2010.
- 325 COOK, J. K. A.; SARAH, J. O.; MARTYN, A. W.; MICHAEL, B. H. Breadth of protection
326 of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis virus of
327 heterologous serotypes. **Avian Pathology**, v. 28, n. 5, p. 477-485, 1999.
- 328 CUBILLOS, A.; ULLOA, J.; CUBILLOS, V.; COOK, J. K. A. Characterisation of strains of
329 infectious bronchitis virus isolated in Chile. **Avian Pathology**, v. 20, p. 85- 99, 1991.
- 330 DI FABIO, J.; ROSSINI, L. I. Bronquite Infecciosa das Galinhas. In: BERCHIERI JUNIOR,
331 A.; MACARI, M. **Doença das aves**. Campinas: FACTA, p. 294-300, 2000, 490p.
- 332 DI FABIO, J.; ROSSINI, L. I.; ORBEL, S. J.; PAULO, G.; HUGGINS, M. B.; MALO, A.;
333 SILVA, B. G. M.; COOK, J. K. A. Cacterization of infectious bronchitis viroses isolated from
334 outbreaks of disease in commercial flocks in Brazil. **Avian Diseases**, v. 44, n. 3, p. 582-589,

- 335 2000.
- 336 DHINAKAR, R. G.; JONES, R. C. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of
337 infection in the chicken. **Avian Pathology**, v. 26, n. 3, p. 677-706, 1997.
- 338 HERVAL, E. F. G. **Soroepidemiologia e caracterização do vírus da Bronquite Infecciosa**
339 **das Galinhas em frangos de corte e aves de fundo de quintal na região de Feira de**
340 **Santana, Bahia, Brasil**. 2011. 85f. Dissertação (Mestrado em ciência animal nos trópicos).
341 Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.
- 342 JAENISCH, F. R. F. Como e porque vacinar matrizes, frangos e poedeiras, Concórdia:
343 Embrapa, 2003. 16p. **Circular técnica**, 36.
- 344 MATEUS, M. C.; SANTOS, J. M. G. Imunização em frangos de corte. **Revista em**
345 **Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 4, n. 2, p. 227-246, 2011.
- 346 MONTASSIER, H. J. Molecular Epidemiology and Evolution of Avian Infectious Bronchitis
347 Virus. **Infectious Bronchitis (IB) in the Brazilian Poultry Industry**, v. 12, n. 2, p. 87-96,
348 2010.
- 349 SALLES R. P. R. CARDOSO, W. M.; ROMÃO, J. M.; AGUIAR FILHO, J. L. C.
350 Monitoração sorológica para bronquite infecciosa em galinhas de postura comercial no Estado
351 do Ceará. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 2, p. 93- 98, 2003.
- 352 SANTOS, H. F. S.; LOVATO, L. T.; FLÔRES, M. L.; TREVISOL, I. M.; MAZZUTTI, K.
353 C.; PAN, K. A. Anticorpos contra vírus em galinhas de terreiro do Estado do Rio Grande do
354 Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 38, n. 7, p. 1932-1937, 2008.
- 355 SANTOS, A. J. M.; TEIXEIRA, M. S. O setor avícola na cidade de Conceição da Feira com
356 escopo nacional. **Revista de Administração**, v. 1, n. 1, p. 30-39, 2010.
- 357 SARUENG, E; WANASAWAENG, W.; SASIPREEYAJAN, J.; CHANSIRIPORNCHAI, N.
358 Efficacy of Live Infectious Bronchitis Vaccine Programs against Infection by QX-Like Strain

- 359 of Infectious Bronchitis Virus. **Thai Journal of Veterinary Medicine**, v. 44, n. 2, p. 187-
360 194, 2014.
- 361 SESTI, L. A. C. Biosseguridade em um programa de melhoramento genético de aves. In:
362 SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2, 2000, Santa Maria, RS. **Anais...** Concórdia:
363 Embrapa Suínos e Aves, 2000. 67p.
- 364 TURBLIN, V. Serological service in poultry industry. **Animal Health Asia Pacific**, n. 30,
365 2010. Disponível em:
366 [http://www.thepoultrysite.com/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob_2010/Article-No30-](http://www.thepoultrysite.com/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob_2010/Article-No30-May10.pdf)
367 [May10.pdf](http://www.thepoultrysite.com/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob_2010/Article-No30-May10.pdf). Acessado em: 06 Fev. 2016.
- 368 XIE, Q.; JI, J.; XIE, J.; CHEN, F.; CAI, M.; SUN, B.; XUE, C.; MA, J.; BI, Y. Epidemiology
369 and immunoprotection of nephropathogenic avian infectious bronchitis virus in southern
370 China. **Virology Journal**, v. 8, n. 484, 2011. Disponível em:
371 <http://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-8-484>. Acessado em: 20 Fev.
372 2016.
- 373 ZHANG, D. Y.; ZHOU, J. Y.; FANG, J.; HU, J. Q.; WU, J. X.; UM, A. X. An ELISA for
374 antibodies to infectious bronchitis vírus based on nucleocapsid protein produced in
375 *Escherichia coli*. **Veterinary Medicine**, v. 50, n. 8, p. 336-344, 2005.
- 376 VINEZA, C. Interpretación y uso de exámenes de ELISA en avicultura. **Revista Electrónica**
377 **de Veterinária**, v. 6, n. 7, 2005. Disponível em:
378 <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070705.html>. Acessado em: 09 Fev. 2016.
379

380 Tabela I – Distribuição do número de propriedades, aves alojadas e amostras por empresas
 381 integradoras e produtores independentes, Conceição da Feira – BA, 2015.

Origem	Nº propriedades	Nº aves alojadas	Nº amostras
Empresa A	3	102800	132
Empresa B	14	508326	616
Empresa C	13	399928	572
Empresa D	13	1798615	572
Empresa E	7	441800	308
F (INDEPENDENTES)	5	157000	220
TOTAL	55	3408469	2.420

382

383 Tabela II – Protocolo de vacinação das aves para BIG com vacina viva atenuada do sorotipo
 384 Mass no município de Conceição da Feira – Ba, 2015.

Origem	Vacina incubatório	Vacina a campo	Nº doses a campo	Idade das aves vacinação a campo (dias)	
Empresa A	H120	0	0	-	385
Empresa B	H120	Ma5	1	15	387
Empresa C	B48	H120	1	18	388
Empresa D	H120	0	0	-	
Empresa E	H120	Ma5	2	10 e 22	389
Independente F1	H120	H120	1	19	
Independente F2	H120	H120	1	20	390
Independente F3	H120	Ma5	2	12 e 18	391
Independente F4	H120	H120	2	14 e 21	
Independente F5	H120	H120	2	7 e 14	392

393

394 Tabela III – Títulos sorológicos para BIG em frangos de corte aos 14 dias, pelo método de
 395 ELISA indireto, com diferentes protocolos de vacinação adotados no município
 396 de Conceição da Feira – Ba, 2015.

Grupo	Protocolo de vacinação	n	CV	GMT	Mín.	Máx.	TÍTULOS 14 DIAS			
							Pos (> 397)		1000 a 4000	
							n	%	n	%
1	Incubatório	352	133.1	27.79	1	673	11	3.13	0	0.00
2	Incubatório + 1 vez a campo	638	120	75.9	1	1584	65	10.19	4	0.63
3	Incubatório + 2 vezes a campo	220	203.2	77.4	1	4596	23	10.45	9	4.09
TOTAL GERAL		1210	152.1	56.9	1	4596	99	7.92	13	1.07

397

398 Tabela IV – Títulos sorológicos para BIG em frangos de corte aos 40 dias, pelo método de
 399 ELISA indireto, com diferentes protocolos de vacinação adotados no município
 400 de Conceição da Feira – Ba, 2015.

Grupo	Protocolo de vacinação	n	CV	GMT	Mín.	Máx.	TÍTULOS 40 DIAS			
							Pos (> 397)		1000 a 4000	
							n	%	n	%
1	Incubatório	352	152.3	33.86	1	826	15	4.26	1	0.28
2	Incubatório + 1 vez a campo	638	210.3	56.3	1	5183	73	11.44	25	3.92
3	Incubatório + 2 vezes a campo	220	192.7	85.8	1	5935	48	21.82	28	12.73
TOTAL GERAL		1210	185.1	52.41	1	5935	136	12.51	54	4.46

401

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maioria das empresas atuantes na região do polo avícola de Feira de Santana faz integração no município de Conceição da Feira, o que permitiu comparar os resultados sorológicos com os diferentes protocolos de vacinação adotados.

Nenhum dos protocolos vacinais, utilizados nas granjas do presente trabalho, promoveu resposta imune humoral adequada. Nas granjas que realizam vacinação a campo não foi observada variação significativa dos títulos de anticorpos entre as idades estudadas, demonstrando soroconversão insatisfatória.

No período estudado não houve evidência de circulação do VBI nas granjas testadas nesse estudo, e a mortalidade e sinais respiratórios observados não podem ser atribuídos à bronquite infecciosa, pois os baixos títulos detectados não caracterizam infecção a campo.

Faz-se necessário caracterizar os plantéis avícolas comerciais de frango de corte de Conceição da Feira em relação às medidas de biossegurança adotadas e práticas de manejo, visando identificar possíveis falhas que possam estar interferindo na resposta imunológica das aves, contribuindo para o controle da doença na região estudada. Sugere-se a unificação dos protocolos vacinais e de programação de alojamento de forma regionalizada, visando diminuir a circulação de vírus vacinal.

REFERÊNCIAS

ABA. ASSOCIAÇÃO BAIANA DE AVICULTURA. **Perfil Avícola da Bahia**. 2011. Disponível em: <http://www.avicultura.ba.com.br/aba/>. Acessado em: 25 Ago. 2014.

ABDEL-MONEIM, A. S.; ZLOTOWSKI, P.; VEIT, J.; KEIL, G. M.; TEIFKE, J. P. Immunohistochemistry for detection of avian infectious bronchitis virus strain M41 in the proventriculus and nervous system of experimentally infected chicken embryos. **Virology Journal**, v. 6, n. 15, 2009. Disponível em: <http://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-6-15>. Acessado em: 05 Ago. 2015.

ABDEL-MONEIM, A. S.; AFIFI, M. A.; EL-KADY, M. F. Emergence of a novel genotype of avian infectious bronchitis virus in Egypt. **Archives of Virology**, v. 157, n. 12, p. 2453-2457, 2012.

ABDEL-MONEIM, A. S.; EL-KADY, M. F.; LADMAN, B. S.; GELB, J., JR. S1 gene sequence analysis of a nephropathogenic strain of avian infectious bronchitis virus in Egypt. **Virology Journal**, v. 3, n. 78, 2006. Disponível em: <http://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-3-78>. Acessado em: 07 Mai. 2015.

ABDEL-MONEIM, A. S.; MADBOULY, H. M.; EL-KADY, M. F. In vitro characterization and pathogenesis of Egypt/Beni-Suef/01; a novel genotype of infectious bronchitis virus. **Veterinary Medicine Journal**, v. 15, n. 2, p. 127-133, 2005.

ABDEL-MONEIM, A. S.; MADBOULY, H. M.; GELB, J., JR.; LADMAN, B. S. Isolation and identification of egypt/beni-seuf /o1 a novel genotype of infectious bronchitis virus **Vet. Med. J.**, v. 50, n. 4, p. 1065-1078, 2002.

ABPA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatórios anuais**. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>. Acessado em: 25 Ago. 2014.

ABREU, J. T.; MOURÃO, M. M.; SANTOS, C. E.; VELOSO, C. J. M.; RESENDE, J. S.; FLATSCHART, R. B.; FOLGUERAS-FLATSCHART, A. V.; JÚNIOR, S. N.; SANTORO, M. M.; MENDES, A. C. R.; FRANCO, G. R.; SILVA, A.; CAMPOS, A. B.; FERNANDEZ, S. Molecular Studies of the Brazilian Infectious Bronchitis Virus Isolates. **Infectious Bronchitis (IB) in the Brazilian Poultry Industry**, v. 12, n. 2, p. 107-110, 2010.

ABREU, J. T.; VELOSO, C. J. M.; RESENDE, J. S.; FLATSCHART, A. V. F.; FLATSCHART, R. B.; SN JÚNIOR, SANTORO, M. M.; MENDES, A. C. R. Tipificação de isolados do vírus da bronquite infecciosa das galinhas (vbig) pelo sequenciamento do segmento s1 e modelagem protéica. In: **CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA**, 10, 2007, Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre, 2007. p. 159-161.

ABRO, S. **Molecular characterization and detection of infectious bronchitis virus**. 2013. 54f. Tese (Doutorado) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.

AFIFI, M. A.; ZAKI, M. M.; ZOELFOKKAR, S. A.; ABO-ZEID, H. H. Evaluation of Spectrum of protection provided against two infectious bronchitis isolates using classical livevaccine. **Life Science Journal**, v. 12, n. 2, p. 91-98, 2015.

AHMED, Z.; NAEEM, K.; HAMEED, A. Detection and Seroprevalence of Infectious Bronchitis Virus Strains in Commercial Poultry in Pakistan. **Poultry Science**, v. 86, p. 1329-1335, 2007.

AL-BARWARY, D. A. M.; GOREAL, A. A Diagnosis of Infectious Bronchitis Disease in Broiler Chickens by Serological test (ELISA) and RT-PCR in Duhok. **International Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 4, n. 1, p. 71-75, 2012.

AL-HAMMAD, Y. M.; AL-AFALEQ, A. I.; MOHAMED, M. H. A. Molecular survey and phylogenic analysis of infectious bronchitis vírus (IBV) circulating among chicken flocks in Riyadh Province, Saudi Arabia. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 13, n. 16, p. 1002-1008, 2014.

ALAZAWY, A. Serological study by using the elisa technique to identification of avian infectious bronchitis disease among some fields of broiler chickens in diyala province. **Diyala Agricultural Sciences Journal**, v. 5, n. 2, p. 25-37, 2013.

ALMEIDA, D. O.; TORTELLY, R.; NASCIMENTO, E. R.; CHAGAS, M. A.; KHAN, M. I.; PEREIRA, V. L. A. Avian infectious bronchitis and deep pectoral myopathy- A case control study. **Poultry Science**, v. 91, p. 3052-3056, 2012.

AMJAD, F.; HASSAN, N.; ARSALAN, H. Detection the 4/91 strain of infectious bronchitis vírus in testicular tissue from experimentally infected rooster by reverse transcription-polymerase chain reaction. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 10, p. 1093-1096, 2009.

AMMAYAPPAN, A.; UPADHYAY, C.; GELB, J., Jr.; VAKHARIA, V. N. Complete genomic sequence analysis of infectious bronchitis virus Ark DPI strain and its evolution by recombination. **Virology Journal**, v. 5, n. 157, 2008. Disponível em: <http://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-5-157>. Acessado em: 08 Jul. 2015.

AMMAYAPPAN, A.; VAKHARIA, V. N. Complete Nucleotide Analysis of the Structural Genome of the Infectious Bronchitis Virus Strain Md27 Reveals its Mosaic Nature. **Viruses**, v. 1, p. 1166-1177, 2009.

AWAD, A. M.; SEDIEK, M. E.; EL-YAMANY, M. E. Isolation and Molecular Characterization of Novel IBV Isolates from Broiler Chicken Farms in Egypt. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, v. 42, p. 74-82, 2014.

BACON, L. D.; HUNTER, D. B.; ZHANG, H. M.; BRAND, K.; ETCHES, R. Retrospective evidence that the MHC (B haplotype) of chickens influences genetic resistance to attenuated infectious bronchitis vaccine strains in chickens. **Avian Pathology**, v. 33, n. 6, p. 605-609, 2004.

BALASUBRAMANIAM, A.; GOPALAKRISHNAMURTHY, T. R.; SIVASEELAN, S.; BALASUBRAMANIAM, G. A.; RAJESWAR, J. J. Evaluation of an inactivated vaccine for nephropathogenic infectious bronchitis virus. **Veterinary World**, v. 6, n. 3, p. 134-138, 2013a.

BALASUBRAMANIAM, A.; SUKUMAR, K.; SURESH, P.; PUVARAJAN, B. Molecular characterisation of membrane glycoprotein and 5b protein of nephropathogenic infectious bronchitis virus. **Vet. World**, v. 6, n. 11, p. 857-861, 2013b.

BALESTRIN, E.; FRAGA, A. P.; IKUTA, N.; CANAL, C. W.; FONSECA, A. S. K.; LUNGR, V. R. Infectious bronchitis virus in different avian physiological systems - A field study in Brazilian poultry flocks. **Poultry Science**, v. 93, p. 1922-1929, 2014.

BANAT, G. R.; TKALCIC, S.; DZIELAWA, J. A.; JACKWOOD, M. W.; SAGGESE, M. D.; YATES, L.; KOPULOS, R.; BRILES, W. E.; COLLISSON, E. W. Association of the chicken MHC B haplotypes with resistance to avian coronavirus. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 39, n. 4, p. 430-437, 2013.

BAYRY, J.; GOUDAR, M. S.; NIGHOT, P. K.; KSHIRSAGAR, S.G.; LADMAN, B. S.; GELB JR., J.; GHALSASI, G.R.; KOLTE, G.N. Emergence of a Nephropathogenic Avian Infectious Bronchitis Virus with a Novel Genotype in India. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 916-918, 2005.

BEACH, J. R.; SCHALM, O. W. A filterable virus, distinct from that of Laryngotracheitis, the cause of a respiratory disease of chicks. **Poultry Science**, v. 15, n. 3, p. 199-206, 1936.

BENYEDA, Z.; MATO, T.; SUVEGES, T.; SZABO, E.; KARDI, V.; ABONYI-TOTH, Z.; RUSVAI, M.; PALYA, V. Comparison of the pathogenicity of QX-like, M41 and 793/B infectious bronchitis strains from different pathological conditions. **Avian Pathology**, v. 38, n. 6, p. 449-456, 2009.

BHATTACHARJEE, P. S.; JONES, R. C. Susceptibility of organ cultures from chicken tissues for strains of infectious bronchitis virus isolated from the intestine. **Avian Pathology**, v. 26, n. 3, p. 553-563, 1997.

BHATTACHARJEE, P. S.; NAYLOR, C. J.; JONES, R. C. A simple method for immunofluorescence staining of tracheal organ cultures for the rapid identification of infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 23, n. 3, p. 471-480, 1994.

BIJANZAD, P., MOMAYEZ, R., BOZORGMEHRIFARD, M. H., HABLOVARID, M. H.; MAHMOODZADEH, M.; MOGHADDAM, A. R. J.; KABOLI, K.; AZIZPOUR, A.; ESHARATABADI, F. Clinical evaluation of SPF chickens infected with 793/B serotype of Infectious Bronchitis virus. **European Journal of Experimental Biology**, v. 3, n. 2, p. 226-230, 2013a.

BIJANZAD, P., MOMAYEZ, R., BOZORGMEHRIFARD, M. H., HABLOVARID, M. H.; POURBAKHS, S. A. Experimental study on histopathological changes and tissue tropism of Iranian infectious bronchitis serotype 793/B-like virus in SPF chickens. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 84, n. 1, 2013b.
Disponível em: <https://doaj.org/article/92115dafa60e45228cf2b6c4f569dacd>.
Acessado em: 24 Abr. 2015.

BIJLENGA, G.; COOK, J. K. A.; GELB, J. Jr.; DE WIT, J. J. Development and use of the H strain of avian infectious bronchitis virus from the Netherlands as a vaccine: a review. **Avian Pathology**, v. 33, n. 6, p. 550-557, 2004.

BOCHKOV, Y. A.; BATCHENKO, G. V.; SHCHERBAKOVA, L. O.; BORISOV, A. V.; DRYGIN, V. V. Molecular epizootiology of avian infectious bronchitis in Russia. **Avian Pathology**, v. 35, n. 5, p. 379-393, 2006.

BOUQDAOUI, M. E.; MHAND, R. A.; BOUAYOUNE, H.; ENNAJI, M. M. Genetic grouping of nephropathogenic avian infectious bronchitis virus isolated in Morocco. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 9, p. 721-727, 2005.

BOUROGÂA, H.; LARBI, I.; MILED, K.; HELLAL, Y.K.; HASSEN, J.; BEHI, I.; NSIRI, J.; GHRAM, A. Evaluation of protection conferred by a vaccination program based on the H120 and CR88 commercial vaccines against a field variant of avian infectious bronchitis virus. **Journal Applied Poultry Research**, v. 23, p. 156-164, 2014.

BOURSNELL, M. E. G.; BINSS, M. M.; FOULDS, I. J.; BROWN, T. D. K. Sequences of the Nucleocapsid Genes from Two Strains of Avian Infectious Bronchitis Virus. **Journal of General Virology**, v. 66, p. 573-580, 1985.

BOX, P. G.; ELLIS, K. R. Infectious bronchitis in laying hens: Interference with response to emulsion vaccine by attenuated live vaccine. **Avian Pathology**, v. 14, n. 1, p. 9-22, 1985.

BOX, P. G.; HOLMES, H. C.; FINNEY, P. M.; FROYMANN, R. Infectious bronchitis in laying hens: The relationship between haemagglutination inhibition antibody levels and resistance to experimental challenge. **Avian Pathology**, v. 17, n. 2, p. 349-361, 1988.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 50, de 24 de setembro de 2013**. Diário Oficial da União em 25/09/2013, Seção 1, Página 47.

_____. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 17 de 07 de abril de 2006**. Diário Oficial da União em 10/04/2006, Seção 1, p. 7.

CARDOSO, T. C.; MONTASSIER, H. J.; GALLETI, M. C. M.; PINTO, A. A. Evaluation of an indirect ELISA method for the detection of chicken antibodies against infectious bronchitis virus. **Revista de Microbiologia**, v. 27, n. 1, p. 64-69, 1996.

CARDOSO, T. C.; SOUSA, R. L. M.; OLIVEIRA, C.; STRINGHINI, G.; PINTO, A. A. A liquid phase blocking ELISA for the detection of antibodies against infectious bronchitis virus. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 6, p. 747-752, 1999.

CARDOSO, T.C.; OLIVEIRA, C.; DA-SILVA, S.E.L.; FERREIRA, H.L.; PINTO, A.A. Estudo comparativo de três diferentes modalidades de ELISA para medir não vacinados. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 3, n. 1, p. 91-96, 2001.

CASAI, R.; DAVIES, M.; CAVANAGH, D.; BRITTON, P. Gene 5 of the Avian Coronavirus Infectious Bronchitis Virus Is Not Essential for Replication. **Journal of virology**, v. 79, n. 13, p. 8065-8078, 2005.

CASAI, R.; DOVE, B.; CAVANAGH, D.; BRITTON, P. Recombinant Avian Infectious Bronchitis Virus Expressing a Heterologous Spike Gene Demonstrates that the Spike Protein Is a Determinant of Cell Tropism **Journal of virology**, v. 77, n. 16, p. 9084-9089, 2003.

CAVANAGH, D.; DAVIS, P. J.; DARBYSHIRE, J. H.; PETERS, R. W. Coronavirus IBV: virus retaining spike glycopolyptide S2 but not S1 is unable to induce virus-neutralizing or haemagglutination-inhibiting antibody, or induce chicken tracheal protection. **J. Gen. Virol.**, v. 67, n. 7, p. 1435-1442, 1986.

CAVANAGH, D. Coronaviruses in Poultry and other birds. **Avian Pathology**, v. 34, n. 6, p. 439-448, 2005.

CAVANAGH, D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. **Veterinary Research**, v. 38, p. 281-297, 2007.

CAVANAGH, D. Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis Coronavirus. **Avian Pathology**, v. 32, n. 6, p. 567-582, 2003.

CAVANAGH, D.; DAVIS, P. J. Evolution of Avian Coronavirus IBV: Sequence of the Matrix Glycoprotein Gene and Intergenic Region of Several Serotypes. **J. Gen. Virol.**, v. 69, p. 621-629, 1988.

CAVANAGH, D.; DAVIS, P. J.; COOK, J. K. A.; LI, D.; KANT, A.; KOCH, G. Location of the amino acid differences in the S1 spike glycoprotein subunit of closely related serotypes of infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 21, n. 1, p. 33-43, 1992.

CAVANAGH, D.; MAWDITT, K.; SHARMA, M.; DRURY, S. E.; AINSWORTH, H. L.; BRITTON, P.; GOUGH, E. Detection of a coronavirus from turkey poult in Europe genetically related to infectious bronchitis virus of chickens. **Avian Pathology**, v. 30, n. 4, p. 355-368, 2001.

CAVANAGH, D.; MAWDITT, K.; WELCHMAN, D. de B.; BRITTON, P.; GOUGH, R. E. Coronaviruses from pheasants (*Phasianus colchicus*) are genetically closely related to coronaviruses of domestic fowl (infectious bronchitis virus) and turkeys. **Avian Pathology**, v. 31, n. 1, p. 81-93, 2002.

CAVANAGH, D.; NAQI, S. Infectious bronchitis. In: BARNES, H. J.; FADLY, A.M.; GLISSON, J. R.; McDOUGALD, L. R.; SWAYNE, D. E. (Eds), **Diseases of poultry**, 11 ed. Ames: Iowa State University, p. 101-119. 2003, 1189p.

CAVANAGH, D.; PICAULT, J. P.; GOUGH, R. E.; HESS, M.; MAWDITT, K.; BRITTON, P. Variation in the spike protein of the 793/B type of infectious bronchitis virus, in the field and during alternate passage in chickens and embryonated eggs. **Avian Pathology**, v. 34, n. 1, p. 20-25, 2005.

CHACÓN, J. L.; RODRIGUES, J. N.; ASSAYAG JÚNIOR, M. S.; PELOSO, C.; PEDROSO, A. C.; FERREIRA, A. J. P. Epidemiological survey and molecular characterization of avian infectious bronchitis virus in Brazil between 2003 and 2009. **Avian Pathology**, v. 40, n. 2, p. 153-162, 2011.

CHEN, B. Y.; HOSI, S.; NUNOYA, T.; ITAKURA, C. Histopathology and immunohistochemistry of renal lesions due to infectious bronchitis virus in chicks. **Avian Pathology**, v. 25, n. 2, p. 269-283, 1996.

CHOI, K. S.; LEE, E. K.; JEON, W. J.; PARK, M. J.; KIM, J. W.; KWON, J. H. Pathogenicity and antigenicity of a new variant of Korean nephropathogenic infectious bronchitis virus. **Journal of Veterinary Science**, v. 10, n. 4, p. 357-359, 2009.

CHOUSALKAR, K. K.; CHEETHAM, B. F.; ROBERTS, J. R. Detection of infectious bronchitis virus strain N1/88 from the oviduct and feces of experimentally infected vaccinated and unvaccinated hens. **Poultry Science**, v. 89, p. 1603-1608, 2010.

CHOUSALKAR, K. K.; ROBERTS, J. R. Effects of Australian strains of infectious bronchitis virus on internal and external quality of hen eggs. **Animal Production Science**, v. 49, p. 162-169, 2009.

COLÁS, M.; ACEVEDO, A. M.; MERINO, A.; LAMAZARES, M. C.; BURGHER, Y.; NODA, J.; FUENTES, D. Histopathological findings in egg-laying hens infected with avian infectious bronchitis virus. **Biotecnología Aplicada**, v. 29, n. 4, p. 224-229, 2012.

COOK, J. K. A. The classification of new serotypes of infectious bronchitis virus isolated from poultry flocks in Britain between 1981 and 1983, **Avian Pathology**, v. 13, n. 4, p. 733-741, 1984.

COOK, J. K. A.; HUGGINS, M. B. Newly isolated Serotypes of infectious bronchitis virus: Their role in disease. **Avian Pathology**, v. 15, n. 1, p. 129-138, 1986.

COOK, J. K. A.; JACKWOOD, M. W.; JONES, R. C. The long view: 40 years of infectious bronchitis research. **Avian Pathology**, v. 41, n. 3, p. 239-250, 2012.

COOK, J. K. A.; SARAH, J. O.; MARTYN, A. W.; MICHAEL, B. H. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis virus of heterologous serotypes. **Avian Pathology**, v. 28, n. 5, p. 477-485, 1999.

COOK, J. K. A.; SMITH, H. W.; HUGGINS, M. B. Infectious Bronchitis Immunity: Its Study in Chickens Experimentally Infected with Mixtures of Infectious Bronchitis Virus and Escherichia coli. **J. Gen. Virol.**, v. 67, p. 1427-1434, 1986.

COOK, J. K. A.; BROWN, A. J.; BRACEWELL, C. D. Comparison of the haemagglutination inhibition test and the serum neutralisation test in tracheal organ cultures for typing infectious bronchitis virus strains. **Avian Pathology**, v. 16, n. 3, p. 505-511, 1987.

CUBILLOS, A.; ULLOA, J.; CUBILLOS, V.; COOK, J. K. A. Characterisation of strains of infectious bronchitis virus isolated in Chile. **Avian Pathology**, v. 20, p. 85-99, 1991.

DARBYSHIRE, J. H.; COOK, J. K. A.; PETERS, R. W. Organ culture studies on the efficiency of infection of chicken tissues with avian infectious bronchitis virus. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 57, p. 443-454, 1976.

DARBYSHIRE, J.H. A clearance test to assess protection in chickens vaccinated against avian infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 14, n. 4, p. 497-508, 1985.

DAVELAAR, F. G.; KOUWENHOVEN, B. Effect of the removal of the Harderian gland in 1-day-old chicks on immunity following IB vaccination. **Avian Pathology**, v. 9, n. 4, p. 489-497, 1980.

DAVELAAR, F. G.; KOUWENHOVEN, B.; BURGER, A. G. Occurrence and significance of Infectious Bronchitis virus variant strains in egg and broiler production in the Netherlands. **Veterinary Quarterly**, v. 6, n. 3, p. 114-120, 1984.

DE WIT, J. J. Detection of infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 29, n. 2, p. 71-93, 2000.

DE WIT, J. J.; COOK, J. K. A.; VAN DER HEIJDEN, H. M. J. F. Infectious Bronchitis Virus in Asia, Africa, Australia and Latin America - History, Current Situation and Control Measures. **Infectious Bronchitis (IB) in the Brazilian Poultry Industry**, v. 12, n. 2, p. 97-106, 2010.

DE WIT, J. J.; COOK, J. K. A.; VAN DER HEIJDEN, H. M. J. F. Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. **Avian Pathology**, v. 40, n. 3, p. 223-235, 2011.

DE WIT, J. J.; MEKKES, D. R.; KOUWENHOVEN, B.; VERHEIJDEN, J. H. M. Sensitivity and specificity of serological tests for infectious bronchitis virus antibodies in broilers. **Avian Pathology**, v. 26, n. 1, p. 105-118, 1997.

DE WIT, J. J.; NIEUWENHUISEN-VAN WILGEN, J.; HOOGKAMER, A.; VAN DE SANTDE, H.; ZUIDAM, G. J.; FABRI, T. H. F. Induction of cystic oviducts and protection against early challenge with infectious bronchitis virus serotype D388 (genotype QX) by maternally derived antibodies and by early vaccination. **Avian Pathology**, v. 40, n. 5, p. 463-471, 2011.

DHINAKAR, R. G.; JONES, R. C. An in vitro comparison of the virulence of seven strains of infectious bronchitis virus using tracheal and oviduct organ cultures. **Avian Pathology**, v. 25, n. 4, p. 649-662, 1996b.

DHINAKAR, R. G.; JONES, R. C. Effect of T-cell suppression by cyclosporin on primary and persistent infections of infectious bronchitis virus in chickens. **Avian Pathology**, v. 26, n. 2, p. 257-276, 1997b.

DHINAKAR, R. G.; JONES, R. C. Immunopathogenesis of infection in SPF chicks and commercial broilers of a variant infectious bronchitis virus of economic importance. **Avian Pathology**, v. 25, p. 481-501, 1996a.

DHINAKAR, R. G.; JONES, R. C. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken. **Avian Pathology**, v. 26, n. 3, p. 677-706, 1997a.

DI FABIO, J., ROSSINI, L. I., ORBELL, S. J., PAUL, G., HUGGINS, M. B., MALO, A., SILVA, B. G. M., COOK, J. K. A. Characterization of infectious bronchitis viruses isolated from outbreaks of disease in commercial flocks in Brazil. **Avian Diseases**, v. 44, n. 3, p. 582-589, 2000.

DI FABIO, J.; ROSSINI, L. I. Bronquite Infecciosa das Galinhas. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doença das aves**. Campinas: FACTA, p. 294-300, 2000, 490p.

DI, B.; HAO, W.; GAO, Y.; WANG, M.; WANG, Y.; QIU, L. W.; WEN, K.; ZHOU, D. H.; WU, X. W.; LU, E. J.; LIAO, Z. Y.; MEI, Y. B.; ZHENG, B. J.; CHE, X. Y. Monoclonal Antibody-Based Antigen Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Reveals High Sensitivity of the Nucleocapsid Protein in Acute-Phase Sera of Severe Acute Respiratory Syndrome Patients. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 12, n. 1, p. 135-140, 2005.

DOLZ, R.; PUJOLS, J.; ORDÓÑEZ, G.; PORTA, R.; MAJÓ, N. Molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus in Spain over a fourteen-year period. **Virology**, v. 374, p. 50-59, 2008.

EL-HOUADFI, MD.; JONES, R. C.; COOK, J. K. A.; AMBALI, A. G. The isolation and Characterisation of six avian infectious bronchitis viruses isolated in morocco. **Avian Pathology**, v. 15, p. 93-105, 1986.

EPIPHANIO, E.O.B.; MARTINS, N. R. S.; RESENDE, J. S.; PINTO, R. G.; JORGE, M. A.; SOUZA, M. B.; CACCIOPPOLI, J.; CARSOZO, R. M. Resultados preliminares da utilização de cultivos de anéis de traqueia para o estudo de estirpes brasileiras do vírus da bronquite infecciosa das galinhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 2, p. 212-216, 2002.

FABRICANT, J. The early history of infectious bronchitis. **Avian Diseases**, v. 42, p. 648-650, 1998.

FELIPPE, P. A. N.; DA SILVA, L. H. A.; SANTOS, M. M. A. B.; SPILKI, F. R.; ARNS, C. W. Genetic Diversity of Avian Infectious Bronchitis Virus Isolated from Domestic Chicken Flocks and Coronaviruses from Feral Pigeons in Brazil Between 2003 and 2009. **Avian Diseases**, v. 54, p. 1191-1196, 2010.

FERNANDO, F. S.; MONTASSIER, M. F. S.; SILVA, K. R.; OKINO, C. H.; OLIVEIRA, E. S.; FERNANDES, C. C.; BANDARRA, M. B.; GONÇALVES, M. C. M.; BORZI, M. M.; SANTOS, R. M.; VASCONCELOS, R. O.; ALESSI, A. C.; MONTASSIER, H. J. Nephritis associated with a S1 variant brazilian isolate of infectious bronchitis virus and vaccine protection test in experimentally infected chickens. **Int. J. Poult. Sci.**, v. 12, n. 11, p. 639-646, 2013.

FERREIRA, A. J. P.; ASTOLFI FERREIRA, C. S.; CHACÓN, J. L.; REVOLLEDO, L.; GROSS, R.; COTRIM, E. In vitro virucidal and bactericidal activities of Aviclor (a formulation of sodium dichloroisocyanurate) against pathogens of poultry origin. **J. Appl. Poult. Res.**, v. 19, p. 93-100, 2010.

GELB, J., Jr., WEISMAN, Y., LADMAN, B. S.; MEIR, R. S1 gene characteristics and efficacy of vaccination against infectious bronchitis virus field isolates from the United States and Israel (1996 to 2000). **Avian Pathology**, v. 34, n. 3, p. 194-203, 2005.

GUY, J. S. Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: A review. **Avian Pathology**, v. 29, n. 3, p. 207-212, 2000.

HANDBERG, K. J.; NIELSEN, O. L.; PEDERSEN, M. W.; JORGENSEN, P. H. Detection and strain differentiation of infectious bronchitis virus in tracheal tissues from experimentally infected chickens by reverse transcription-polymerase chain reaction. Comparison with an immunohistochemical technique. **Avian Pathology**, v. 28, p. 327-335, 1999.

HODGSON, T.; BRITTON, P.; CAVANAGH, D. Neither the RNA nor the proteins of open reading frames 3a and 3b of the coronavirus infectious bronchitis virus are essential for replication. **Journal of Virology**, v. 80, n.1 , p. 296-305, 2006.

IGNJATOVIC, E. J.; ASHTON, F. Detection and differentiation of avian infectious bronchitis viroses using a monoclonal antibody-based. **Avian Pathology**, v. 25, n. 4, p. 721-736, 1996.

IGNJATOVIC, J.; GALLI, U. Immune responses to structural proteins of avian infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 24, n. 2, p. 313-332, 1995.

IGNJATOVIC, J.; SAPATS, S. Avian infectious bronchitis virus. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v. 19, n. 2, p. 493-508, 2000.

JACKWOOD, M. W.; HALL, D.; HANDEL, A. Molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 6, p. 1305-1311, 2012.

JAIMES-OLAYA, J. A.; RAMIREZ, A. P. G.; ESPEJO, D. C.M. Á.; TOVAR, D. S.; PRADA, J. R. R.; JIMENEZ, L. C. V. Las enfermedades infecciosas y su importancia en el sector avícola. **Revista de Medicina Veterinaria**, n. 20, p. 49-61, 2010.

JANSE, E. M.; ROOZELAAR, D. V.; KOCH, G. Leukocyte subpopulations in kidney and trachea of chickens infected with infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 23, p. 513-523, 1994.

JEONG, Y. S.; MAKINO, S. Mechanism of Coronavirus Transcription: Duration of Primary Transcription Initiation Activity and Effects of Subgenomic RNA Transcription on RNA Replication. **Journal of virology**, v. 66, n. 6, p. 3339-3346, 1992.

JIA, W.; WANG, X.; PARRISH, C. R.; NAQI, S. A. Analysis of the Serotype-Specific Epitopes of Avian Infectious Bronchitis Virus Strains Ark99 and Mass41. **Journal of virology**, v. 70, n. 10, p. 7255-7259, 1996.

JONES, R. C.; JORDAN, F. T. W. Variation in effects of infectious bronchitis virus of the reproductive performance of individual laying hens: an experimental study. In: V. INT. SYMPOSIUM OF AVIAN CORONA AND PNEUMOVIRUSES. 2006, Rauschholzhausen. **Anais...** Rauschholzhausen, 2006, p. 276-285.

KLIEVE, A. V.; CUMMING, R. B. Immunity and cross-protection to nephritis produced by Australian infectious bronchitis viruses used as vaccines. **Avian Pathology**, v. 17, n. 4, p. 829-839, 1988.

KOCH, G.; HARTOG, L.; KANT, A.; VAN ROOZELAAR, D. J. Antigenic domains on the peplomer protein of avian infectious bronchitis virus: correlation with biological functions. **Journal of General Virology**, v. 71, p. 1929-1935, 1990.

KUSTERS, J. G.; NIESTERS, H. G. M.; BLEUMINK-PLUYM, N. M. C.; FRANS G. DAVELAAR, F. G.; HORZINEK, M. C.; VAN DER ZEIJST, B. A. M. Molecular Epidemiology of Infectious Bronchitis Virus in The Netherlands. **J. Gen. Virol.**, v. 68, p. 343-352, 1987.

LAI, M. M.; CAVANAGH, D. The molecular biology of coronavirus. **Advances virus research**, v. 48, p. 1-100, 1997.

LEE, C. W.; BROWN, C.; JACKWOOD, M. W. Tissue distribution of avian infectious bronchitis virus following in ovo inoculation of chicken embryos examined by in situ hybridization with antisense digoxigenin-labeled universal riboprobe. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 14, p. 377-381, 2002.

LIU, S.; CHEN, J.; CHEN, J.; KONG, X.; SHAO, Y.; HAN, Z.; FENG, L.; CAI, X.; GU, S.; LIU, M. Isolation of avian infectious bronchitis coronavirus from domestic peafowl (*Pavo cristatus*) and teal (*Anas*). **Journal of General Virology**, v. 86, p. 719-725, 2005.

LIU, S.; KONG, X. A new genotype of nephropathogenic infectious bronchitis virus circulating in vaccinated and non-vaccinated flocks in China **Avian Pathology**, v. 33, n. 3, p. 321-327, 2004.

MACDONALD, J. W.; RANDALL, C. J.; MCMARTIN, D. A.; DAGLESS, M. D.; GAZDZINSKI, P. Active and passive immunisation against nephritis induced by an avian infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 10, n. 2, p. 121-129, 1981.

MALO, A.; ORBELL, S.; HUGGINS, M.; WOODS, M.; COOK, J. K. A. Cross protection studies after the use of live attenuated IBV vaccines Nobilis® IB 4-91 and Nobilis® IB Ma5 (Massachusetts type). **Intervet VSD Newsletter** n. 17, p. 1-6, 1998.

MEULEMANS, G.; BOSCHMANS, M.; DECAESSTECKER, M.; VAN DEN BERG, T. P.; DENIS, P.; CAVANAGH, D. Epidemiology of infectious bronchitis virus in Belgian broilers: A retrospective study, 1986 to 1995. **Avian Pathology**, v. 30, n. 4, p. 411-421, 2001.

MOCKETT, A. P. A.; COOK, J. K. A. The detection of specific IgM to infectious bronchitis virus in chicken serum using an elisa. **Avian Pathology**, v. 15, n. 3, p. 437-446, 1986.

MOCKETT, A. P. A.; COOK, J. K. A.; HUGGINS, M. B. Maternally-derived antibody to infectious bronchitis virus: Its detection in chick trachea and serum and its role in protection. Maternally-derived antibody to infectious bronchitis virus: its detection in chick trachea and serum and its role in protection. **Avian Pathology**, v. 16, p. 407-416, 1987.

MOCKETT, A. P. A.; DARBYSHIRE, J. H. Comparative studies with an enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) for antibodies to avian infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 1981.

MONTASSIER, H. J. Molecular Epidemiology and Evolution of Avian Infectious Bronchitis Virus. **Infectious Bronchitis (IB) in the Brazilian Poultry Industry**, v. 12, n. 2, p. 87-96, 2010.

MONTASSIER, M. F. S.; BRENTANO, L.; MONTASSIER, H. J.; RICHTZENHAIN, L. J. Genetic grouping of avian infectious bronchitis virus isolated in Brazil based on RT-PCR/RFLP analysis of the S1 gene1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 190-194, mar. 2008.

MOSCOSO, H.; RAYBON, E. O.; THAYER, S. G.; HOFACRE, C. L. "Molecular Detection and Serotyping of Infectious Bronchitis Virus from FTA-Filter Paper". **Avian diseases**, v. 49, n. 1, p. 24-29, 2005.

MUNEER, M. A.; MUHAMMAD, K.; MUNIR, K.; NAEEM, K. Seroprevalence of different infectious bronchitis virus strains in chickens. **Pakistan Vet. J.**, v. 19, n. 4, p. 168-172, 1999.

MUNEER, M. A.; NEWMAN, J. A.; GOYAL, S. M.; AJMAL, M. Research Note: Antibodies to Avian Infectious Bronchitis Virus in Pakistani Chickens. **Poultry Science**, v. 66, p. 765-767, 1987.

MUÑIZ, F. G.; ESCORCIA, M.; PETRONE, V. M.; FEHERVARI, T.; QUINTANA L. J. A.; ISAIAS, G. T. Evaluación de tres protocolos de vacunación de explotaciones de pollo de engorda en el altiplano mexicano, mediante detección de anticuerpos y protección ante un desafío controlado con el virus de bronquitis infecciosa. **Vet. Méx.**, v. 31, n. 2, p. 83-88, 2000.

NAGANO, H.; HOHDATSU, T.; TSUCHIMOTO, M.; IDE, S.; YAMAGAMI, T.; YAMAGISHI, H.; FUJISAKI, Y. Cross-reactivity among infectious bronchitis viroses in enzyme-linked immunosorbent assay. **J. Vet. Sci.**, v. 49, n. 3, p. 491-497, 1987.

NAQI, S. A.; KARACA, K.; BAUMAN, B. A monoclonal antibody-based antigen capture enzyme linked immunosorbent assay for identification of infectious bronchitis virus serotypes. **Avian Pathology**, v. 22, n. 3, p. 555-564, 1993.

OIE 2015. **World Organisation for Animal Health**. Disponível em: <http://www.oie.int/>. Acessado em 13 Dez. 2015.

OLIVEIRA, A. P. **Expressão da proteína S1 recombinante do vírus da bronquite infecciosa em *Saccharomyces cerevisiae* para aplicação no imunodiagnóstico**. 54f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, 2008.

PEI, J.; BRILES, W. E.; COLLISSON, E. W. Memory T cells protect chicks from acute infectious bronchitis virus infection. **Virology**, v. 306, p. 376-384, 2003.

RESENDE, J. S. **Genotipificação e filogenia de isolados de vírus oriundos de surtos de bronquite infecciosa das galinhas na avicultura industrial do Estado de Minas gerais, Brasil, no período entre 1972 e 1989**. 2003. 111f. Tese (Doutorado em Ciência Animal), Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

RIMONDI, A.; CRAIG, M. I.; VAGNOZZI, A.; KÖNIG, G.; DELAMER, M.; PEREDA, A. Molecular characterization of avian infectious bronchitis virus strains from outbreaks in Argentina (2001-2008), **Avian Pathology**, v. 38, n. 2, p. 149-153, 2009.

ROCHA, F. R. T. **Produção e caracterização de anticorpos monoclonais contra a glicoproteína S1 do vírus da bronquite infecciosa das galinhas**. 2000. 31p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SALLE, C. T. P.; SILVA, A. B. Prevenção de doenças/Manejo profilático/Monitoração. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: Facta, p. 3-12, 2000, 490p.

- SANDRI, T. L. **Vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV): distribuição, diversidade molecular e genealogia a partir de amostras de múltiplos órgãos de diversos tipos de criação do plantel avícola brasileiro.** 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SANTOS, A. J. M.; TEIXEIRA, M. S. O setor avícola na cidade de Conceição da Feira com escopo nacional. **Revista de Administração**, v. 1, n. 1, p. 30-39, 2010.
- SANTOS, C. H. C.; SILVA, E. N. Métodos de diagnósticos laboratoriais microbiológicos e sorológicos. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves.** Campinas: FACTA, p. 173-182, 2000. 490p.
- SEO, S. H.; COLLISSON, E. W. Specific cytotoxic T lymphocytes are involved in in vivo clearance of infectious bronchitis vírus. **Journal of Virology**, v. 71, n. 7, p. 5173-5177, 1997.
- SEO, S. H.; WANG, L.; SMITH, R.; COLLISSON, E. W. The Carboxyl-Terminal 120-Residue Polypeptide of Infectious Bronchitis Virus Nucleocapsid Induces Cytotoxic T Lymphocytes and Protects Chickens from Acute Infection. **Journal of Virology**, v. 71, n. 10, p. 7889-7894, 1997.
- SIDDELL, S.; WEGE, H.; MEULEN, V. The Biology of Coronaviruses. Review article. **J. Gen. Virol.**, v. 64, p. 761-77, 1983.
- SIDDELL, S. Coronavirus JHM: Coding Assignments of Subgenomic mRNAs. **J. Gen. Virol.**, v. 64, p. 113-125, 1983.
- SONG, C. S.; LEE, Y. J.; KIM, J. H.; SUNG, H. W.; LEE, C. W.; IZUMIYA, Y.; MIYAZAWA, T.; JANG, H. K.; MIKAMI, T. Epidemiological classification of infectious bronchitis virus isolated in Korea between 1986 and 1997. **Avian Pathology**, v. 27, n. 4, p. 409-416, 1998a.
- SONG, C. S.; LEE, Y. J.; LEE, C. W.; SUNG, H. W.; KIM, J. H.; MO, I, P.; IZUMIYA, Y.; JANG, H. K.; MIKAMI, T. Induction of protective immunity in chickens vaccinated with infectious bronchitis virus S1 glycoprotein expressed by a recombinant baculovirus. **J. Gen. Virol.**, v. 79, p. 719-723, 1998b.
- SOUZA, M. B.; MARTINS, N. R. S.; RESENDE, J. S. Afinidades antigênicas de amostras de campo do vírus da bronquite infecciosa das galinhas com a amostra Massachusetts M41. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, n. 2, p. 146-151, 2001.

STERN, D. F.; SEFTON, B. M. Coronavirus Proteins: Structure and Function of the Oligosaccharides of the Avian Infectious Bronchitis Virus Glycoproteins. **Journal of Virology**, v. 44, n. 3, p. 804-812, 1982.

TOMLEY, F. M.; MOCKETT, A. P. A.; BOURSNEILL, M. E. G.; BINNS, M. M.; COOK, J. K. A.; BROWN, T. D. K.; SMITH, G. L. Expression of the infectious bronchitis virus spike protein by recombinant vaccinia virus and induction of neutralizing antibodies in vaccinated mice. **J. Gen. Virol.**, v. 68, p. 2291-2298, 1987.

TORO, H.; VAN SANTEN, V. L.; LI, L.; LOCKABY S. B.; VAN SANTEN, E.; HOERR, F. J. Epidemiological and experimental evidence for immunodeficiency affecting avian infectious bronchitis. **Avian Pathology**, v. 35, n. 6, p. 455-464, 2006.

TURBLIN, V. Serological service in poultry industry. *Animal Health Asia Pacific*, n. 30, 2010. Disponível em:

http://www.thepoultrysite.com/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob_2010/Article-No30-May10.pdf. Acessado em: 06 Fev. 2016.

WANG, X.; KHAN, M. I. Use of reverse transcriptase–polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism to examine the interaction between infectious bronchitis virus strains Massachusetts 41 and JMK in ovo. **Avian Pathology**, v. 29, p. 441-448, 2000.

ZHANG, D. Y.; ZHOU, J. Y.; FANG, J.; HU, J. Q.; WU, J. X.; UM, A. X. An ELISA for antibodies to infectious bronchitis virus based on nucleocapsid protein produced in *Escherichia coli*. **Veterinary Medicine**, v. 50, n. 8, p. 336-344, 2005.

ZWAAGSTRA, K. A.; VAN DER ZEIJST, B. A. M.; KUSTERS, J. G. Rapid Detection and Identification of Avian Infectious Bronchitis Virus. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 79-84, 1992.