

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 13/03/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ANÁLISE DA EVOLUÇÃO DE UMA VARIANTE DO
CORONAVÍRUS AVIÁRIO APÓS INFECÇÃO E
PERSISTÊNCIA EM MATRIZES DE PRODUÇÃO**

Filipe Santos Fernando

Médico Veterinário

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ANÁLISE DA EVOLUÇÃO DE UMA VARIANTE DO
CORONAVÍRUS AVIÁRIO APÓS INFECÇÃO E
PERSISTÊNCIA EM MATRIZES DE PRODUÇÃO**

Filipe Santos Fernando

Orientador: Prof. Dr. Helio José Montassier

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em Medicina
Veterinária (Medicina Veterinária
Preventiva).**

2017

Fernando, Filipe Santos
F363a Análise da evolução de uma variante do coronavírus aviário após
infecção e persistência em matrizes de produção / Filipe Santos
Fernando. -- Jaboticabal, 2017
vii, 108 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Helio José Montassier
Banca examinadora: Ricardo Luiz Moro de Sousa, Rafael Antônio
Casarin Penha Filho, Cintia Hiromi Okino, Marcos Rogério André
Bibliografia

1. Galinha. 2. Genótipo brasileiro. 3. Patogenicidade. 4.
Persistência. 5. VBI. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.98:636.5

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ANÁLISE DA EVOLUÇÃO DE UMA VARIANTE DO CORONAVÍRUS AVIÁRIO APÓS INFECÇÃO E PERSISTÊNCIA EM MATRIZES DE PRODUÇÃO


AUTOR: FILIPE SANTOS FERNANDO

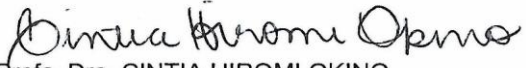
ORIENTADOR: HÉLIO JOSÉ MONTASSIER

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em MEDICINA VETERINÁRIA, área: MEDICINA VETERINARIA PREVENTIVA pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. HÉLIO JOSÉ MONTASSIER
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. RICARDO LUIZ MORO DE SOUSA
USP / Pirassununga, SP


Pós-Doutorando RAFAEL ANTONIO CASARIN PENHA FILHO
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. CINTIA HIROMI OKINO
EMBRAPA / São Carlos, SP


Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 13 de março de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Filipe Santos Fernando – nasceu em Umuarama-PR, no dia 14 de fevereiro de 1987, concluindo o Ensino Fundamental e Médio em escola pública. Graduiu-se em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual de Maringá-PR (UEM), em janeiro de 2011. Durante a graduação foi bolsista CNPq e Fundação Araucária de Iniciação Científica (IC) na área de Microbiologia de animais domésticos e bolsista UEM de monitoria em Bioquímica animal I e II, Imunologia e Microbiologia. A partir de janeiro de 2008 iniciou formação específica em Virologia e Imunologia Veterinária no Laboratório de Imunologia e Virologia Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - FCAV-UNESP, Departamento de Patologia Animal, sob orientação do Professor Dr. Helio José Montassier. Em junho de 2013 concluiu o mestrado em Patologia Veterinária após estudar as propriedades biológicas, de patogenicidade e imunidade cruzada de uma estirpe brasileira do vírus da bronquite infecciosa, sob financiamento de bolsa da FAPESP. Em agosto de 2013, iniciou o curso de doutorado sob orientação do Professor Dr. Helio José Montassier na área de virologia e Medicina Veterinária Preventiva. Em seguida, assumiu a função de virologista da Seara Alimentos, com concentração em enfermidades virais aviárias. Neste período, contribuiu para a implantação de um laboratório de sanidade animal para diagnóstico e estudo de doenças virais e bacterianas que acometem aves de produção. Em janeiro de 2015, assumiu a função de coordenador de Laboratório de Sanidade Animal, com foco no desenvolvimento de ferramentas de diagnósticos moleculares, de técnicas convencionais de isolamento e sorologia para diagnóstico viral e bacteriano, bem como na gestão de processos, custo e pessoas. Atua também a campo no auxílio do diagnóstico de doenças infecciosas que acometem aves comerciais (frango de corte e matrizes de produção) e na auditoria de processos agropecuários, tais como granjas e fabrica de rações, com foco em biosseguridade e sanidade animal.

EPÍGRAFE

“O homem sem iniciativa, que tudo espera do acaso, é como o mendigo, que vive de esmolas.

A mais bela coragem é a confiança que devemos ter na capacidade do nosso esforço. O que sobe por favor deixa sempre rastro de humilhação. O caminho está aberto a todos, e se uns vencem e alcançam o que almejam, não é porque sejam predestinados, senão porque forçaram os obstáculos com arrojo e tenacidade.

Não há arrimo mais firme do que a vontade. O que se fia em si mesmo é como o que viaja com roteiro e provido de farnel e não perde tempo em informar-se do caminho nem em buscar estalagem para comer.

Só há uma sina a que o homem não pode fugir, é o trabalho — ponte lançada sobre o abismo da miséria, no fundo do qual gemem todas as dores, rugem todos os vícios e escabujam em lama todas as vergonhas.

É um passo estreito, por vezes oscilante, mas quem se atira por ele com firmeza de ânimo e olhar alevantado atravessa-o, alcançando, no outro lado, a fortuna.

Quem desanima ou se deixa vencer pelo terror, fica na pobreza ou rola do alto, e, uma vez caído, só com redobrado esforço conseguirá voltar acima, ferindo-se nas arestas dos alcantis, e, às vezes, trazendo manchas de lama, que é o fundo do precipício.

Aquele que confia em si anda sempre de olhos abertos; o que se entrega a outrem vai como cego; e tanto pode ser guiado para o bem como dirigido para o mal.

A fortuna é como o fruto que se não dá senão a quem o vai colher no ramo, esperá-lo debaixo da árvore até que se desprenda do galho é dispor-se a comê-lo podre.

O homem que diz “Eu quero!” é como a ave, que se levanta na força das próprias asas, cruzando o espaço como entenda; aquele que diz “Eu espero...” é como a flecha, que só se dirige na direção da pontaria, caindo, inerte, desde que cesse o impulso da corda que a disparou.

Só os fracos, os impotentes quedam na resignação; os enérgicos insurgem-se, lutam, dão combate à vida e vencem”.

Brevário Cívico, por Henrique Coelho Neto (1921).

AGRADECIMENTOS

À vida e seu Criador...

Ao trabalho, que me torna digno de viver...

Aos meus animais, razão pela qual escolhi esta profissão.

Ao orientador que me deu a oportunidade e me tornou apto a pensar... (Helio José Montassier).

A quem contribuiu em toda e qualquer etapa deste trabalho até sua conclusão.

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE TABELA.....	vi
LISTA DE FIGURA.....	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Coronavírus: estrutura e replicação.....	5
2.2 Replicação.....	8
2.3 Evolução.....	12
2.4 Patogenia	17
2.5 Epidemiologia	23
2.6 Diagnóstico.....	26
2.7 Prevenção e controle.....	28
2.8 Estratégias de vacinação	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Acompanhamento experimental	37
3.2 Amostras biológicas colhidas das aves com suspeita de infecção pelo VBI	38
3.3 Isolamento viral e propagação.....	38
3.4 Purificação de isolado do VBI contendo vírus do genótipo Massachusetts.....	39
3.5 Aplicação da técnica de RT-qPCR para a detecção e quantificação da carga viral.....	40
3.5.1 Extração do RNA total	40
3.5.2 Detecção viral através da <i>duplex</i> RTqPCR	40
3.5.3 Construção da curva padrão e quantificação da carga viral pela técnica de PCR quantitativo em tempo real (qPCR).....	41
3.5.4 Sequenciamento total do gene S1 e análise das sequências entre as estirpes.....	42
3.6 Detecção de anticorpos circulantes através da técnica de ELISA... ..	44
3.7 Vírus neutralização.....	45
3.7.1 Preparo de células de rim de pintos SPF de 1 dia.....	45
3.7.2 Multiplicação viral e adaptação em cultivo de células renais.....	46
3.7.3 Produção de antissoro contra a estirpe Massachusetts do VBI.....	47
3.7.4 Neutralização de estirpe contaminante do genótipo Massachusetts... ..	48
3.7.5 Determinação do título infectante em cultura celular	49
3.7.6 Teste de Vírus-neutralização.....	49
3.8 Infecção experimental	51
3.8.1 Avaliação da transmissão viral em aves sentinelas.....	52
3.8.2 Avaliação do movimento ciliar dos anéis traqueais obtidos de aves desafiadas com as estirpes isoladas do VBI	52

	3.8.3 Exames histopatológicos dos órgãos obtidos de aves desafiadas com as estirpes do VBI.....	53
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.1	Histórico dos lotes de matrizes de corte investigadas neste estudo....	55
4.2	Quantificação absoluta da carga viral em matrizes naturalmente infectadas com estirpes variantes do VBI.....	57
4.2.1	Construção da curva padrão para quantificação absoluta da carga viral.....	57
4.2.2	Quantificação absoluta da carga viral das amostras de campo.....	58
4.3	Avaliação da resposta imune humoral sistêmica contra o VBI	63
4.4	Avaliação dos títulos de anticorpos vírus-neutralizantes contra a estirpe vacinal Massachusetts e contra as variantes heterólogas do VBI presentes nos soros de aves reprodutoras obtidos nos episódios clínicos da bronquite infecciosa.....	65
4.5	Análise das sequencias inteiras do gene S1 entre as estirpes isoladas ou detectadas em diferentes intervalos.....	69
4.6	Avaliação em aves SPF da virulência e tropismo tecidual dos isolados do VBI recuperados de matrizes de corte persistentemente infectadas.....	77
4.7	Comentários e Inferências.....	81
5	CONCLUSÃO.....	85
6	REFERÊNCIAS.....	87



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal




CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 4021/15 do trabalho de pesquisa intitulado "Análise da evolução de variantes do Coronavírus aviário após infecção e persistência em matrizes de produção", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Hélio José Montassier está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 01 de abril de 2015.

Jaboticabal, 01 de abril de 2015.


Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

ANÁLISE DA EVOLUÇÃO DE UMA VARIANTE DO CORONAVÍRUS AVIÁRIO APÓS INFECÇÃO E PERSISTÊNCIA EM MATRIZES DE PRODUÇÃO

RESUMO - A bronquite infecciosa (BI) é uma doença altamente contagiosa que acomete o trato respiratório e urogenital de aves comerciais e que é causada pelo vírus da bronquite infecciosa (VBI) resultando em grandes perdas econômicas para a indústria avícola em todo o mundo. No presente estudo, foram obtidos três isolados de VBI de um lote matrizes de produção rotineiramente vacinado contra BI, em três diferentes idades, sendo que essas aves revelaram-se persistentemente infectadas com o VBI pelo período de 65 semanas em que foram avaliadas. Para tanto, foi realizada para esses três isolados do VBI uma análise molecular e filogenética da região S1 do gene que codifica a glicoproteína da espícula (S) e também foram caracterizadas a antigenicidade, a virulência e o tropismo tecidual através da infecção experimental em pintos livres de patógenos específicos (SPF) e de aves sentinelas, que foram colocadas em contato com as aves experimentalmente infectadas para avaliar o potencial de disseminação destes isolados de VBI. Os resultados revelaram que os três isolados do VBI são geneticamente próximos e sorologicamente relacionados, sendo classificados após a análise filogenética na linhagem 11 do genótipo I (GI-11), anteriormente denominada de genótipo BR-I, além de que esses vírus demonstraram maior tropismo e lesões renais. Foram observadas poucas diferenças em relação à patogenicidade para a traquéia e rins, que podem estar associadas a mutações que ocorreram no gene S1 destes isolados durante o período da infecção persistente. Os três isolados do VBI de aves pertencentes a um lote persistentemente infectado de matrizes de frangos de corte conservaram sua capacidade de infectar aves sentinelas por contato e causaram nessas aves alterações clínicas e patológicas semelhantes. Em conclusão, os isolados de IBV do genótipo I do BR estão evoluindo continuamente durante o ciclo produtivo de matrizes frangos de corte persistentemente infectadas, causando surtos episódicos da infecção que não são impedidos pelo atual programa de vacinação com as estirpes vacinais do genótipo / sorotipo Massachusetts. Além disso, as alterações genéticas no gene S1 destes isolados não foram capazes de alterar o seu tropismo e patogenicidade tecidual, mas parecem influenciar negativamente a eficácia das respostas imunes do hospedeiro contra estes vírus e favorecer a persistência viral.

Palavras-chave: Galinha, Genótipo brasileiro, Patogenicidade, Persistência, VBI.

ASSESSMENT OF THE EVOLUTION OF AVIAN CORONAVIRUS VARIANT AFTER INFECTION AND PERSISTENCE IN BROILER BREEDERS

ABSTRACT - Infectious bronchitis (IB) is a highly contagious disease that affects the respiratory and urogenital tract of commercial birds and is caused by infectious bronchitis virus (IBV), resulting in major economic losses to the poultry industry worldwide. In the present study, three isolates of VBI were obtained at three different ages from one set of broiler breeders that were vaccinated against IBV according to a routine protocol, and was persistently infected with IBV for the 65 weeks. A molecular and phylogenetic analysis of the S1 region of the gene coding for the spike glycoprotein (S) was performed for these three isolates. In addition, antigenicity, virulence and tissue tropism were also characterized by experimental infection of specific pathogen free chicks (SPF) and sentinel birds, which were used to assess the potential for dissemination of these IBV isolates. The results showed that the three IBV isolates are genetically and serologically close related, and after phylogenetic analysis they were classified in the BR-I genotype. In addition, these viruses demonstrated greater tropism and lesions for kidneys. There were few differences in pathogenicity for tracheal and renal tissues of experimental infected birds, and these differences may be associated with mutations that occurred in the S1 gene of these isolates during persistent infection. The three IBV isolates from persistently infected broiler breeders retained their ability to infect sentinel birds by contact and caused similar clinical and pathological changes in these birds. In conclusion, IBV isolates of BR genotype I are continuously evolving during the productive cycle of persistent infected broiler breeders, causing outbreaks that are not impeded by the current vaccination program with Massachusetts vaccine strains. In addition, the genetic alterations in the S1 gene of these isolates were not able to alter their tropism and tissue pathogenicity, but appeared to negatively influence the efficacy of host immune responses against these viruses and favor viral persistence.

Keywords: Chicken, Brazilian genotype, Pathogenicity, Persistence, IBV.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 Nomenclatura, sequência, polaridade, localização e tamanho dos amplicons obtidos para sequenciamento do gene S1 completo.....	43
Tabela 2 Parâmetros de avaliação da ciliostase de anéis traqueais frente ao desafio com o VBI	53
Tabela 3 Representação dos grupos avaliados e submetidos a coletas durante o experimento, demonstrando os genótipos detectados por RT-qPCR nos intervalos de cada coleta (semanas) e origem das estirpes virais isoladas para sequenciamento e infecção experimental.....	56
Tabela 4 Média Geométrica de Título (GMT) de três isolados do VBI durante o estudo longitudinal, através da vírus-neutralização com amostras de soro de aves nas idades de 24, 46 e 62 semanas e antissoro do sorotipo Massachusetts.....	69

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Ilustração da organização da sequência genética do vírus da bronquite infecciosa. Ilustração retirada de Jackwood (2012).....	6
Figura 2 Representação gráfica da evolução de mortalidade e desempenho produtivo de ovos das matrizes de corte pertencentes ao lote avaliado neste estudo. Os losangos vermelhos demonstram as idades onde houve isolamentos virais que coincidiram com a presença de sinais clínicos e percentagens de mortalidade acima do esperado.....	57
Figura 3 Curva padrão gerada com uso dos valores de C(q) vs. Log ₁₀ das diluições seriadas de razão 10 (10 ⁻¹ a 10 ⁻⁹) do DNA plasmidial correspondente ao gene S1 do VBI. A eficiência da reação foi de 92.658%, estimada com base no coeficiente angular da reta como indicado pela fórmula	58
Figura 4 Número de cópias do gene S1 do VBI (Log ₁₀) detectados nas traqueias, rins(B), rins, tonsilas cecais e suabes cloacais das aves naturalmente infectadas com o VBI em diferentes intervalos pós a primeira detecção viral	59
Figura 5 Perfil cinético (médias ±SD.) da concentração de anticorpos do isótipo IgG anti-VBI detectados por ELISA (IDEXX Laboratories, USA) em amostras de soro das aves nos diferentes intervalos pós diagnóstico para infecção.....	64
Figura 6 Análise filogenética baseada na sequência completa de nucleotídeos do gene S1 das estirpes do VBI representando os genótipos I, II, II, IV, V e VI das estirpes do VBI depositadas no GenBank. A história evolucionária inferida utilizando-se o método de Maximum Likelihood, matriz Tamura-Nei, com bootstrap de 1000. A análise envolveu 123 sequências do gene S1 e foi conduzida no MEGA6. As estirpes VBI/C/24, VBI/C/46 e VBI/C/62 estão identificadas na linha paralela dentro do genótipo I, linhagem 11	70

- Figura 7 Análise filogenética baseada na sequência completa de nucleotídeos do gene S1 das estirpes do VBI representando os genótipos I, linhagem 11 do VBI depositadas no GenBank. A história evolucionária inferida utilizando-se o método de Maximum Likelihood, matriz Tamura-Nei, com bootstrap de 1000 pseudo-replicatas 71
- Figura 8 Alinhamento da sequência deduzida de aminoácidos do gene S1 completo das estirpes VBI/C/24, VBI/C/46 e VBI/C/62 e estirpes vacinais de referência. As sequências foram alinhadas com o auxílio do programa CLC Sequence Viewer 7.5. Entre os aminoácidos estão indicados as posições com base no gene S1 de cada isolado..... 72
- Figura 9 Alinhamento da sequência deduzida de aminoácidos do gene S1 completo das estirpes VBI/C/24, VBI/C/46 e VBI/C/62. As sequências foram alinhadas com o auxílio do programa CLC Sequence Viewer 7.5. Entre os aminoácidos estão indicados as posições com base no gene S1 de cada isolado. Destacadas nos quadros, encontram-se as regiões hipervariáveis 1, 2 e 3 73
- Figura 10 Predição dos epítomos da glicoproteína S1 pelo método de Hopp & Woods. Os picos acima da linha em azul correspondem aos peptídeos que constituem em possíveis epítomos da glicoproteína S1. A linha vermelha corresponde à sequências de aminoácidos do isolado VBI/C/24; linha azul representa o isolado VB/C/46 e a linha verde o isolado VBI/C/62 75
- Figura 11 Fotomicrografia de lâmina contendo cortes histológicos corados com hematoxilina e eosina (H&E). Na figura estão representadas amostras de aves experimentalmente desafiadas com isolados do VBI e tecidos de aves pertencentes ao grupo controle negativo. As fotomicrografias a. e d. correspondem aos tecidos de aves não desafiadas – controle negativo de traqueia e rim, respectivamente. b. Traqueia com deciliação do epitélio e moderada presença de células linfóides e heterofílicas formando o infiltrado inflamatório epitelial e na lâmina própria. c. Traqueia com moderada infiltração inflamatória

e difusa, apresentando hiperemia na lâmina própria em um corte histológico de ave experimentalmente desafiada com VBI aos 4dpi; abaixo da seta, notar necrose e degeneração das células epiteliais, degeneração de estrutura glandular, leve hiperplasia e descamação do cílios epiteliais. e. Infiltrado linfoide túbulo-intersticial e degeneração com necrose de células epiteliais tubulares (seta) de um corte histológico de rim de ave aos 7dpi. f. Moderado infiltrado linfoide com característica multifocal e presença de células degeneradas e heterófilos no lúmen 78

Figura 12 Alterações patológicas evidenciadas através da coloração de H&E em cortes histológicos dos tecidos traqueais e renais, mensuradas como escores de ciliostase, escores de histopatologia e cargas virais induzidas pela infecção experimental de aves SPF de 14 dias de idade desafiadas com os isolados do VBI (VBI/C/24, VBI/C/46 e VBI/C/62). Os intervalos de 4, 7 e 11dpi foram analisados. A quantificação da carga viral do VBI é representada como \log_{10} do número de cópias do gene S1 nas traqueias e rins que foram quantificadas por RT-qPCR com SYBR Green I (* $p < 0,05$)..... 80

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado uma das principais bases agroindustriais do mundo. Dentre as principais atividades nesse setor produtivo, encontra-se a avicultura, que atualmente ocupa um lugar de destaque no cenário mundial, sendo o país com maior exportação de carnes de frango e o segundo em termos de produção de carne e derivados de frango, alcançando a produção de 13,146 milhões de toneladas no ano de 2015 (ABPA).

No entanto, as doenças infecciosas em geral e, em particular, as doenças respiratórias de etiologia viral, causam grandes preocupações quanto aos prejuízos econômicos e os riscos para a saúde pública. Dentre essas doenças e que requer grandes investimentos para prevenção, encontram-se os vírus da influenza aviária (VIA) e o vírus da doença de Newcastle. Esses agentes são de suma importância no contexto mundial e nacional, que podem de maneira drástica comprometer o crescimento produtivo e conseqüentemente provocar perda de mercado. Neste tocante, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), criou normas e ações estabelecidas que contribuem para regulamentar a produção avícola e salvaguardar o plantel avícola nacional, através do Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA).

Dentro do PNSA, a Coordenação de Sanidade Avícola, do Departamento de Saúde Animal, produziu o manual de procedimentos de atenção a suspeitas e medidas de contenção de episódio de influenza aviária e doença de Newcastle (Plano de contingência para influenza aviária e doença de Newcastle), como medida de prevenir, controlar e impedir a disseminação dos agentes dessas doenças no plantel avícola nacional. Essas iniciativas contribuíram e, como anexas ao PNSA, foram desenvolvidas Instruções Normativas (INs), que além de monitorar e prevenir contra o VIA e VDN, melhoram e vem melhorando as condições sanitárias dos núcleos produtores em todo o Brasil.

Em adição a isso, existem outros agentes virais conhecidos principalmente por suas características de infecção respiratória, apesar de serem mais brandos quando comparados com o VIA e o VDN, e que possuem significativa importância em termos de severidade de lesões e perdas econômicas na avicultura industrial são

o vírus da laringotraqueíte infecciosa (VLTi), o metapneumovírus aviário (MPV) e o vírus da bronquite infecciosa aviária (VBI). Entre estes agentes causadores de doenças respiratórias, adquire grande relevância o vírus da bronquite infecciosa, um coronavírus do gênero *Gammacoronavirus*, composto por fita simples de RNA não segmentado com sentido positivo (CAVANAGH, 2001; de VRIES et al., 1997), é o que possui maior importância econômica, principalmente por seu potencial de ampla disseminação entre as criações avícolas (JONES, 2010; ASSAYAG et al., 2012a; ASSAYAG et al., 2012b; FERNANDO et al., 2016).

O VBI tem como porta de entrada o sistema respiratório superior e infecta primeiramente as células epiteliais da traqueia, produzindo os primeiros sinais clínicos de natureza respiratória. Por isso, o VBI é conhecido principalmente por ocasionar doença aguda do trato respiratório de seus hospedeiros. Mas, além do nome do agente sugerir o desenvolvimento estritamente respiratório, algumas estirpes deste vírus podem desenvolver lesões em diversos órgãos do trato urinário, reprodutor e digestório das aves infectadas. Esta característica está relacionada principalmente à alta taxa de variabilidade genética do VBI, que reflete no surgimento de estirpes variantes genéticas e, em alguns casos, fenotípicas, com padrões de tropismo e patogenia diferentes das estirpes dos grupos clássicos. A prevenção da bronquite infecciosa (BI) em todo mundo é feita pela vacinação das aves, sendo que, no Brasil, até outubro de 2016, a vacina utilizada era estritamente composta por estirpes atenuadas do genótipo/sorotipo Massachusetts (Mass).

Em adição a isso e até o advento das análises de sequenciamento, sabe-se que a maioria dos isolados brasileiros do VBI, até 1989, foi classificada no sorotipo Massachusetts. Entretanto, a partir da década de 90, a maior parte das amostras isoladas desse vírus teve apenas uma estirpe classificada no sorotipo Massachusetts, sendo que os demais isolados descritos eram antígenicamente diferentes desse e de outro sorotipo clássico, o sorotipo Arkansas. Tais estirpes mostraram-se também ser diferentes não só entre si, como também daqueles sorotipos descritos em outros países, tendo sido identificados pelo menos cinco tipos antigênicos diferentes que coexistiam no sudeste brasileiro, nesse mesmo período.

No entanto, grupos de pesquisa demonstraram por análise filogenética do gene S1 que isolados da década de 1970 não pertenciam ao genótipo Mass. E, a

partir do ano 2000, genótipos do VBI com características de variantes autóctones têm sido identificados em amostras colhidas de aves de plantéis brasileiros localizados nas principais regiões de produção avícola do Brasil.

Pouco depois, estudos na Argentina, Uruguai, Colômbia e Peru também identificaram estirpes pertencentes ao mesmo grupo das amostras isoladas no Brasil. As análises filogenéticas mostraram que os genótipos brasileiros, argentinos e uruguaios do VBI apresentavam-se segregados em um grupo filogeneticamente distinto de outros grupos constituídos pelas principais estirpes de referência do VBI provenientes dos continentes Europeu e Asiático, dos Estados Unidos e da Austrália, incluindo aquelas que são relacionadas ao sorotipo Massachusetts, levando a inferir que a presença de variantes do VBI nos plantéis brasileiros pode ser a razão para o insucesso no controle do vírus e sua manifestação clínica.

Foi verificado também que, além de lesões respiratórias, os novos isolados brasileiros do VBI, que foram genotipados como variantes, estavam também associados com diversas manifestações clínicas e patológicas da BI nos plantéis avícolas, tais como traqueobronquites e aerossaculites, lesões renais e problemas reprodutivos em fêmeas e em machos, ficando, assim, caracterizado o potencial de um amplo espectro de patotipos dentre esses novos isolados brasileiros do VBI.

Com as confirmações sobre a existência de uma linhagem exclusivamente sul-americana, ensaios foram realizados a fim de acessar o perfil biológico destas estirpes por meio de condições de infecções experimentais, bem como a relação de proteção das vacinas rotineiramente utilizadas no Brasil frente a estas estirpes. Os resultados comprovaram as evidências encontradas no campo e assim permitiram que uma nova vacina viva atenuada, produzida a partir de um isolado variante brasileiro fosse introduzida no Brasil em outubro de 2016.

Um fato interessante encontrado sob condições experimentais, é que estirpes pertencentes ao genótipo brasileiro apresentaram um potencial muito grande de eliminação através das fezes e persistência em tonsilas cecais. Estes achados trouxeram a tona uma questão importante sobre o potencial de disseminação e persistência dessa linhagem no campo, e ainda com maior ineditismo, como é a persistência desse vírus em aves comerciais de vida longa e se há uma possível evolução viral sob essas condições, em linhagens com maior ou menor virulência.

Em vista do exposto acima, este trabalho avaliou a presença de três isolados do genótipo brasileiro do VBI em diferentes amostras de tecidos e suabes traqueais e cloacais de matrizes de produção que apresentaram sinais clínicos característicos da infecção pelo VBI durante o ciclo produtivo dessas aves. Em seguida, as aves foram diagnosticadas e acompanhadas durante toda o seu ciclo de vida, sendo caracterizadas as estirpes variantes e não pertencentes ao sorotipo/genótipo Mass isoladas em diferentes intervalos e avaliadas quanto as alterações na sequência de nucleotídeos do gene codificador e na sequência deduzida de aminoácidos da glicoproteína da espícula S1.

O lote de matrizes de produção foi também avaliado quanto à persistência em diferentes períodos após a confirmação da infecção por variante do VBI, e as aves avaliadas sorologicamente quanto o título de anticorpos anti-VBI produzidos no compartimento sistêmico (soro sanguíneo) em diferentes idades das matrizes reprodutoras persistentemente infectadas. Os resultados foram relacionados com a ocorrência de soro-conversão com a infecção pelo VBI e determinada a atividade vírus-neutralizante homóloga e heteróloga desses anticorpos.

Por fim, a patogenicidade dos isolados oriundos de matrizes reprodutoras foi avaliada, bem como a capacidade de transmissão desses isolados do VBI através da infecção experimental em aves SPF e de aves sentinela colocadas em contato com as aves experimentalmente infectadas, e assim relacionados os efeitos patogênicos observados com alterações encontradas na composição do gene e da glicoproteína S1.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos com esta pesquisa e em consonância com os objetivos propostos, podemos concluir que:

- Foram isoladas estirpes de cada um dos episódios clínicos de BI em órgãos do trato respiratório (traqueia), urinário (rins) e intestinal (tonsilas cecais) de aves de vida longa (matrizes de corte). Tais estirpes foram classificadas com base no sequenciamento e análise filogenética do gene S1, na linhagem 11 do genótipo I; denominado anteriormente de genótipo BR-I, que difere marcadamente dos genótipos de estirpes de referência do VBI, incluindo o genótipo da estirpe vacinal Massachusetts.

- As estirpes isoladas do genótipo brasileiro do VBI mostraram, após infectarem as aves susceptíveis desse lote, potencial de causarem infecção persistente e excreção viral principalmente por via cloacal durante toda a fase de criação em aves de vida longa (matrizes de corte) desse estudo..

- As estirpes do VBI recuperadas de episódios clínicos que acometeram as aves reprodutoras desse estudo, estão em um franco processo de evolução, uma vez que os vírus que foram recuperados do segundo e terceiro surtos de BI em matrizes de corte, com 46 e 62 semanas de idade, respectivamente, apresentam entre si e com relação ao isolado do primeiro surto de BI ocorrido na 24^a semana de idade dessas aves, mutações principalmente sediadas em nucleotídeos de codons das regiões hipervariáveis (HVR-1; HVR-2 e HVR-3) do gene S1, que resultam em mutações de determinados resíduos de aminoácidos pertencentes a importantes epítomos vírus-neutralizantes da proteína S1 do VBI.

- O atual programa de vacinação das matrizes de corte, objeto desse estudo, utilizando principalmente estirpes do genótipo / sorotipo Massachusetts, embora proporcione a indução de títulos elevados de anticorpos vírus-neutralizantes sistêmicos anti-VBI, não previnem a doença clínica causada pela estirpe heteróloga

(genótipo BR-I do VBI) isolada do primeiro episódio clínico da BI nesse estudo, nem evitam a persistência e a transmissão desse vírus por essas aves.

- As aves de vida longa (matrizes de corte) do presente estudo, depois do primeiro surto de BI causado por estirpe variante do genótipo brasileiro, desenvolvem títulos elevados de anticorpos vírus-neutralizantes presentes no soro sanguíneo e com reatividade cruzada para essas mesmas estirpes variantes, os quais conferem uma imunidade parcial ao desenvolvimento de lesões e sinais clínicos da infecção por esses vírus no segundo e terceiro surtos de BI, reduzindo-os, mas não sendo capazes de impedir o estabelecimento da persistência da infecção por esses vírus em órgãos do trato intestinal e urinário dessas aves.

- As estirpes do VBI isoladas nesse estudo de três episódios clínicos que acometeram aves de vida longa (matrizes de corte) apresentam patogenicidade característica para os tratos respiratório (traqueia) e urinário (rins) de galinhas SPF, bem como, foram capazes de serem transmitidas das aves desafiadas para aves SPF sentinelas colocadas em contato, nas quais causaram também lesões e sinais clínicos característicos da BI.

6 REFERÊNCIAS

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.

ABDEL-MONEIM, A. S.; ZLOTOWSKI, P.; VEITS, 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://doi:10.1186/1743-422X-6-15>.

ABREU, J.T.; RESENDE, J. S.; FLATSCHART, R. B.; FOLGUERAS-FLATSCHART, A. V.; MENDES, A. C.; MARTINS, N. R. Molecular analysis of Brazilian infectious bronchitis field isolates by reverse transcription- polymerase chain reaction, restriction fragment length polymorphism, and partial sequencing of the N gene. **Avian Diseases**, v. 50, p. 494-501, 2006.

ABRO, S.H.; RENSTRÖM, L.H.M.; ULLMAN, K.; BELÁK, S.; BAULE, C. Characterisation and analysis of the full-length genome of a strain of the European QX-like genotype of infectious bronchitis virus. **Archives of Virology**, v. 157, p. 1211-1215, 2012.

ABRO, S. H.; RENSTROM, L. H. M.; ULLMAN ETAL, K. Emergence of novel strains of avian infectious bronchitis virus in Sweden. **Veterinary Microbiology**, v. 155, n. 2–4, p. 237–246, 2012.

ACEVEDO, A. M.; DE ARCE, H. D.; BRANDAO, P. E.; COLAS, M.; OLIVEIRA, S.; PEREZ, L. J. First evidence of the emergence of novel putative infectious bronchitis virus genotypes in Cuba. **Research in Veterinary Science**, v. 93, p. 1046-1049, 2012.

ACEVEDO, A. M.; PERERA, C. L.; VEJA, A.; RÍOS, L.; CORONADO, L.; RELOVA, D.; FRÍAS, M. T.; GANGES, L.; NUÑEZ, J. I.; PÉREZ, L. J. A duplex SYBR Green I-based real-time RT-PCR assay for the simultaneous detection and differentiation of Massachusetts and non-Massachusetts Serotypes of infectious bronchitis virus. **Molecular and Cellular Probes**, v. 27, n. 184e192, 2013.

AL-TARCHA, B.; KOJNOK, J.; VARRO, C. Isolation and characterization of new infectious bronchitis virus variants in Hungary. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 38, p. 287–298, 1990.

ALBASSAM, M. A.; WINTERFIELD, R. W.; THACKER, H. L. Comparison of the nephropathogenicity of four strains of infectious bronchitis vims. **Avian Diseases**, v. 30, p. 468-476, 1986.

ALEXANDER, D. J.; GOUGH, R. E. Isolation of avian infectious bronchitis vims from experimentally infected chickens. **Research in Veterinary Science**, v. 23, p. 344-347, 1977.

ALEXANDER, D. J.; GOUGH, R. E.; PATTISON, M. A long-term study of the pathogenesis of infection of fowls with three strains of avian infectious bronchitis virus. **Research in Veterinary Science**, v. 24, p. 228-233, 1978.

AMBALI, A. G.; JONES, R. C. Early Pathogenesis in Chicks of Infection with an Enterotropic Strain of Infectious Bronchitis Virus. **Avian Diseases**, v. 34, n. 4, p. 809-817, 1990.

AMBEPITIYA WICKRAMASINGHE, I. N.; VAN BEURDEN, S. J.; WEERTS, E. A.; VERHEIJE, M. H. The avian coronavirus spike protein. *Virus Research*, v. 194, p. 37–48, 2014.

ANDRADE, L. F.; VILLEGAS, P.; FLETCHER, O. J.; LAUDENCIA, R. Evaluation of ciliary movement in tracheal rings to assess immunity against infectious bronchitis virus. **Avian Diseases**, v. 26, n. 4, p. 805-814, 1982.

ARMESTO, M.; CASAIS, R.; CAVANAGH, D.; BRITTON, P. Transient dominant selection for the modification and generation of recombinant infectious bronchitis coronaviruses. In: Cavanagh D, ed. **SARS- and Other Coronaviruses: Laboratory Protocols**: Humana Press, 2009, p. 255–273.

ARMESTO, M.; CAVANAGH, D.; BRITTON, P. The replicase gene of avian coronavirus infectious bronchitis virus is a determinant of pathogenicity. **PLoS One**, v. 4, e7384, 2009.

ARMESTO, M.; EVANS, S.; CAVANAGH, D.; ABU-MEDIAN, A.; KEEP, S.; BRITTON, P. A Recombinant Avian Infectious Bronchitis Virus Expressing a Heterologous Spike Gene Belonging to the 4/91 Serotype. **Plos One**, v. 6, n. 8, e24352, 2011.

ASSAYAG, M. S. J.; CHACÓN, J. L. V.; FERREIRA, A. P. Economic impact of IB in a Brazilian poultry integration system. In M. Lierz, U. Heffels-Redmann, E.F. Kaleta & J. Heckmann (Eds.), **Proceedings of the VII. International symposium on Corona- and Pneumoviruses and complicating pathogens**, Rauschholzhausen, Germany, 2012a, p. 80-83.

ASSAYAG, M. S. J.; ROCHA, P. T.; KUANA, S. Performance of vaccines containing different Massachusetts strains of IBV in the slaughterhouse condemnation. In M. Lierz, U. Heffels-Redmann, E.F. Kaleta & J. Heckmann (Eds.), **Proceedings of the VII. Int. symposium on Corona- and Pneumoviruses and complicating pathogens**. Rauschholzhausen. Germany, 2012b, p.189-193.

ASSAYAG, M.S.J., ROCHA, P.T., PEDROSO, A.C. & PEREDA, A. Epidemiology of IB and the impact in the condemnations in the slaughterhouse. In M. Lierz, U. Heffels-Redmann, E.F. Kaleta & J. Heckmann (Eds.), **Proceedings of the VII. Int.**

symposium on Corona- and Pneumoviruses and complicating pathogens. Rauschholzhausen. Germany, 2012c, p.189-193.

ALTHAUS, C. L. Estimating the Reproduction Number of Ebola Virus (EBOV) During the 2014 Outbreak in West Africa. **PLoS Currents**, v. 6, 2014.

BHATTACHARJEE, P. S.; CARTER, S. D.; SAVAGE, C. E.; JONES, R. C. Re-excretion of infectious bronchitis virus in chickens induced by cyclosporin. **Avian Pathology**, v. 24, p. 435-441, 1995.

BEFUS, A. D.; JOHNSTON, N.; LESLIE, G. A.; BIENENSTOCK, J. Gut-associated lymphoid tissue in the chicken. I. Morphology, ontogeny and some functional characteristics of Peyer's patches, **Journal of immunology**, Baltimore, v. 125, n. 6, p. 2626-2632, 1980.

BLORE, P. J.; SKEELES, J. K. Use of a constant-virus diluting-serum microneutralization technique for the detection and quantification of infectious bronchitis virus antibodies. **Avian Diseases**, v. 24, n. 4, p. 801-809, 1981.

BRIAN, D. A.; BARIC, R. S. Coronavirus genome structure and replication. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 287, p. 1–30, 2005.

BENYEDA, Z.; MATÓ, T.; SÜVEGES, T.; SZABÓ, E.; KARDI, V.; ABONYI-TÓTH, 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, 449-456, 2009.

BENYEDA, Z.; MATÓ, T.; SÜVEGES, T.; SZABÓ, E.; KARDI, V.; ABONYI-TÓTH, Z.; RUSVAI, M.; PALYA, V. Comparative Histopathology and Immunohistochemistry of QX-like, Massachusetts and 793/B Serotypes of Infectious Bronchitis Virus Infection in Chickens. **Journal of Comparative Pathology**, v. 143, p. 276-283, 2010.

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, p.550-557, 2004.

BOCHKOV, Y. A.; BATCHENKO, G. V.; SHCHERBAKOVA, L. O.; BORISOV, A. V.; DRYGIN, V. V. Molecular epizootiology of a vian infectious bronchitis in Russia. **Avian Pathology**, v. 35, n. 5, p. 379–93, 2006.

BONI, M. F.; GOG, J. R.; ANDREASEN, V.; CHRISTIANSEN, F. B. Influenza drift and epidemic size: the race between generating and escaping immunity. **Theor. Popul. Biol.**, v. 65, p. 179–191, 2004.

BOUQDAOUI, M.; BOUAYOUNE, R. A.; 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.

BOX, P. G.; ROBERTS, B.; BERESFORD, A. V. Infectious bronchitis-preventing loss of egg production by emulsion vaccine at point-of-lay. **Dev. biol. Standard**, Basel, v. 51, p. 97-103, 1982.

BRANDÃO, P. E. Avian Infectious Bronchitis Virus in Brazil: A Highly Complex Virus Meets a Highly Susceptible Host Population. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 2, p. 121 – 124, 2010.

BRITTON, P.; CAVANAGH, D. Avian coronavirus diseases and infectious bronchitis vaccine development. **Avian Pathology**, v. 32, p. 567-582, 2007.

BRONZONI, R. V. M.; MONTASSIER, M. F. S.; PEREIRA, G. T.; GAMA, N. M.; SAKAI, V.; MONTASSIER, H. J. Detection of Infectious Bronchitis Virus and Specific Anti-Viral Antibodies Using a Concanavalin A–Sandwich–ELISA. **Viral Immunology**, v. 18, p. 569-78, 2005.

COLLISSON, E. W.; PARR, R. L.; WANG, L.; WILLIAMS, A. K. An overview of molecular characteristics of avian infectious bronchitis virus. **Poultry Science Reviews**, v. 4, n. 1, p. 41-55, 1992.

CAPUA, I.; MINTA, Z.; KARPINSKA, E.; MAWDITT, K.; BRITTON, P.; CAVANAGH, D.; GOUGH R. E. Cocirculation of four types of infectious bronchitis virus (793/B 624/I B1648 and Massachusetts). **Avian Pathology**, v. 28, p. 587–592, 1999.

CASAI, R.; THIEL, V.; SIDDELL, S. G.; CAVANAGH, D.; BRITTON, P. Reverse genetics system for the avian coronavirus infectious bronchitis virus. **Journal of Virology**, v. 75, p. 12359–12369, 2001

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.

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, p. 8065–8078, 2005.

CAVANAGH, D. Coronavirus IBV: further evidence that the surface projections are associated with two glycopolypeptides. **Journal of General Virology**, v. 64, p. 1787-1791, 1983.

CAVANAGH, D.; DARBYSHIRE, J. H.; DAVIS, P.; PETERS, R. W. Induction of humoral neutralising and haemagglutination inhibiting antibody by the spike protein of avian infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, v. 13, p. 573-583, 1984.

CAVANAGH, D.; DAVIS, P.J. Coronavirus IBV: removal of spike glycopolypeptide S1 by urea abolishes infectivity and haemagglutination but not attachment to cells. **Journal of General Virology**, v. 67, p. 1443–1448, 1986.

CAVANAGH, D.; DAVIS, P. J.; COOK, J. K.; 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, p. 33–43, 1992.

CAVANAGH, D.; ELLIS, M. M.; COOK, J. K. A. Relationship between sequence variation in the S1 spike protein of infectious bronchitis virus and the extent of cross-protection in vivo, **Avian Pathology**, v. 26, p. 63–74. 1997.

CAVANAGH, D.; NAQI, S. INFECTIOUS BRONCHITIS, IN: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J.; GLISSON, J.R.; FADLY, A. M.; MCDUGALD, L. R.; SWAYNE, D. E. (Eds.), Diseases of poultry, Iowa, 11th edition, Ames, Iowa State University Press, 2003, pp. 101–119.

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.; GELB, J. Jr. (2008). Infectious bronchitis. In: Diseases of Poultry, Twelfth Edition. Saif Y. M.; Fadly, A. M.; Glisson, J. R.; McDougald, L. R.; Nolan, L. K.; Swayne, D. E., Eds. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA, 117– 135.

CHHABRA R, KUCHIPUDI SV, CHANTREY J, GANAPATHY K. Pathogenicity and tissue tropism of infectious bronchitis virus is associated with elevated apoptosis and innate immune responses. **Virology**, v. 488, p. 232–241, 2015.

CHACÓN, J. L.; RODRIGUES, J. N.; ASSAYAG JR, 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.

CHIBO, D.; BIRCH, C. Analysis of human coronavirus 229E spike and nucleoprotein genes demonstrates genetic drift between chronologically distinct strains. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 1203–1208, 2006.

CHONG, K. T.; APOSTOLOV, K. The pathogenesis of nephritis in chickens induced by infectious bronchitis virus. **Journal of Comparative Pathology**, v. 92 ,p. 199–211, 1982.

COLLISSON, E. W.; PARR, R. L.; WANG, L.; WILLIAMS, A. K. An overview of molecular characteristics of avian infectious bronchitis virus. **Poultry Science Review**, v. 4, n. 1, p. 41-55, 1992.

COLLISSON, E. W.; PEI, J.; DZIELAWA, J.; SEO, S. H. Cytotoxic T lymphocytes are critical in the control of infectious bronchitis virus in poultry. **Dev. Comp. Immunol**, v. n. 24, p. 187–200, 2000.

COOK J.K. Duration of experimental infectious bronchitis in chickens. **Research in Veterinary Science**, v. 9, p. 506-514, 1968.

COOK, J. K. Isolation of a new serotype of infectious bronchitis-like virus from chickens in England. **Veterinary Record**, v. 112, p. 104–105, 1983.

COOK, J. K. A.; ORBELL, S. J.; WOODS, M. A.; HUGGINS, M. B. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. **Avian Pathology**, v. 28, p. 477-485, 1999.

COOK, J. K. A.; CHESHER, J.; BAXENDALE, W.; GREENWOOD, N.; HUGGINS, N. B.; ORBELL, S. J. Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, Colchester, v. 30, n. 4, p. 423-426, 2001.

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

CUMMING, R. B. Studies on Australian infectious bronchitis virus. IV. Apparent farm-to-farm airborne transmission of infectious bronchitis vims. **Avian Diseases**, v. 14, p. 191-195, 1970.

CUNNINGHAM, C. H.; SPRING, M. P.; NAZERIAN, K. Replication of avian infectious bronchitis vims in African green monkey kidney cell line VERO. **Journal of General Virology**, v. 16, p. 423-427, 1972.

DHAMA, K.; SINGH, S. D.; BARATHIDASAN, R.; DESINGU, P. A.; CHAKRABORTY, S.; TIWARI, R.; KUMAR, M. A. Emergence of avian infectious bronchitis virus and its variants need better diagnosis, prevention and control strategies: a global perspective. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 17, p. 751-767, 2014.

DAMICO, R. L.; CRANE, J.; BATES, P. Receptor-triggered membrane association of a model retroviral glycoprotein. **Proceedings of National Academic Science of USA**, v. 95, p. 2580–2585, 1998.

DARBYSHIRE, J. H.; PETERS, R. W. Humoral antibody response and Assessment of protection following primary vaccination of chickens with maternally derived antibody against avian infection bronchitis virus. **Research in Veterinary Science**, v. 38, n. 1, p.14-21, 1985.

DAVIDSON, I.; SILVA, R. Creation of diversity in the animal virus world by interspecies and intra-species recombinations: lessons learned from poultry viruses. **Virus Genes**, v. 36, p. 1–9, 2008.

DE WIT, J.J.; DE JONG, M. C.; PIJPERS, A.; VERHEIJDEN, J. H. Transmission of infectious bronchitis virus Within vaccinated and unvaccinated groups of chickens. **Avian Pathology**, v. 27, p. 464–471, 1998.

DE WIT, J. J. Infectious Bronchitis Virus in Asia, Africa, Australia and Latin America - History, Current Situation and Control Measures. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n.2, p. 97-106, 2010.

DE WIT, J.J.; COOK, J. K.; VAN DER HEIJDEN, H. M. 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.; BRANDÃO, P. E.; TORRES, C. A.; KOOPMAN, R. A.; VILLARREAL, L. Y. Increased level of protection of respiratory tract and kidney by combining different infectious bronchitis virus vaccines against challenge with nephropathogenic Brazilian genotype subcluster 4 Strains. **Avian Pathology**, v. 44, n. 5, p. 352-357, 2015.

DE BOER; R. J; TUSSCHER, K. Theoretical Biology & Bioinformatics. Utrecht University. Retrieved 2007-11-13. Livro on line acessível em: <http://theory.bio.uu.nl/rdb/books/>

DHAMA, K.; SINGH, S. D.; BARATHIDASAN, S.; DESINGU, P. A.; CHAKRABORTY, S.; TIWARI, R.; KUMAR, M. A. Emergence of avian infectious bronchitis virus and its variants need better diagnosis, prevention and control strategies: a global perspective. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 6, p. 751-767, 2014.

DHINAKAR, R. .G.; JONES, R.C. Prototypical differentiation of avian infectious bronchitis viruses using an in vitro challenge model. **Veterinary Microbiology**, v. 533, p. 239–52, 1996.

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

DI FÁBIO, J.; ROSSINI, L.I. Bronquite infecciosa das galinhas. In : BERCHIERI JR., A. e MACARI, M. **Doença das aves**. 1 ed. Campinas: FACTA, 293-300, 2000.

DOLZ, R.; VERGARA-ALERT, J.; PÉREZ, M.; PUJOLS, J.; MAJÓ, N. New insights on infectious Bronchitis virus pathogenesis: characterization of Italy 02 serotype in chicks and adult Hens. **Veterinary Microbiology**, v. 156, p. 256–264, 2012.

DOMINGO, E. Quasispecies Theory in Virology. **Journal of Virology**, v. 76, p. 463-465, 2002.

DOMINGO, E.; MARTÍN, V.; PERALES, C.; GRANDE-PÉREZ, A.; GARCÍA-ARRIAZA, J.; ARIAS, A. Viruses as Quasispecies: Biological Implications. **CTMI**, 299:51–82, 2006.

DOMINGO, E.; PERALES, C.; AGUDO, R.; ARIAS, A.; FERRER-ORTA, C. Mutation, quasispecies and lethal mutagenesis. In: Ehrenfeld E, Domingo E, Roos RP, editors. *The Picornaviruses*. ASM Press; Washington, DC: 2010. p. 197–211.

DOMINGO, E.; SHELDON, J.; PERALES, C. Viral quasispecies evolution. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 76, n. 2, p. 159–216, 2012.

DUCATEZ, M. F.; MARTIN, A. M.; OWOADE, A. A.; OLATOYE, I. O.; ALKALI, B. R.; MAIKANO, I.; SNOECK, C. J.; SAUSY, A.; CORDIOLI, P.; MULLER, C. P. Characterization of a new genotype and serotype of infectious bronchitis virus in Western Africa. **Journal of General Virology**, v. 90, p. 2679-2685, 2009.

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

EL-HOUADFI, M.; 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.

ELENA, S.F.; SANJUAN, R. Virus evolution: insights from an experimental approach. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 38, p. 27–52, 2007.

ERBECK, D. H.; MCMURRAY, B. L. Isolation of Georgia variant (Georgia isolate 1992) infectious bronchitis virus but not *Ornithobacterium rhinotracheale* from a Kentucky broiler complex. **Avian Diseases**, v. 42, p. 613-617, 1998.

ESTEVEZ, C.; VILLEGAS, P.; EL-ATTRACHE, J. A recombination event, induced in ovo, between a low passage infectious bronchitis virus field isolate and a highly embryo adapted vaccine strain. **Avian Diseases**, v. 47, p. 1282–1290, 2003.

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

FELIPPE, F. A. N.; SILVA, L. H. A.; SANTOS, M. M. A.; SPILKI, F. R.; ARNS, C. W. Genetic diversity of avian infectious Bronchitis virus isolated from domestic chicken flocks and coronaviruses from feral rigeus in Brazil between 2003 and 2009. **Avian Diseases**, v. 54, n.4, p. 1191-1198, 2010.

FENG, J.; HU, Y.; MA, Z.; YU, Q.; ZHAO, J.; LIU, X.; ZHANG, G. Virulent Avian Infectious Bronchitis Virus, People's Republic of China. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 12, 2012.

FERNANDO, S. F.; 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. **International**

Journal of Poultry Science, v. 12, n. 11, p. 639-646, 2013. Disponível em: < <http://10.3923/ijps.2013.639.646>

FERNANDO, F.S.; CINTIA, H. O.; KETHERSON, R. S.; CAMILA, C. F.; MARIANA, C. M. G.; MONTASSIER, M. F. S.; ROSEMERI, O. V.; MONTASSIER, H. J. Increased expression of Interleukin-6 related to nephritis in chickens challenged with an Avian infectious bronchitis virus variant. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 216-222, 2015. Disponível em: < [http:// dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2015000300002](http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2015000300002)

FERNANDO, F. S. **Avaliação da patogenicidade e da imunidade cruzada de estirpe variante do vírus da bronquite infecciosa aviária isolada no Brasil**. 2013. F363a. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006.

FERNANDO, F.S.; KASMANAS, T. C.; MAZUTTI, A.; SCHAEFER, G.; MONTASSIER, H. J.; ASSAYAG JR, M. S. Longitudinal field studies on the pathogenesis, persistence, and molecular biology of avian infectious bronchitis virus in Brazilian broiler flocks (2016). pp. 97-103. In: **Proceedings of the 9th International Symposium on Avian Corona- and Pneumoviruses**, Utrecht, The Netherlands, 21-24 June.

FERNANDO, F.S.; ASSAYAG JR, M. S.; KASMANAS, T. C.; SHAEFER, G.; MAZUTTI, A.; TRIQUES, G. E.; LARA, A. C. Economic impact of infectious bronchitis in a poultry complex in southern Brazil. pp. 85-90. In: **Proceedings of the 9th International Symposium on Avian Corona- and Pneumoviruses**, Utrecht, The Netherlands, 21-24 June.

FERNANDO, F.S.; SANTOS, R. M.; SILVA, K. R.; LOPES, P. D.; MONTASSIER, M. F. S. ASSAYAG JR, M. S.; MONTASSIER, H. J. Evaluation of pathogenesis and cross-immunity with Massachusetts vaccine strain of a variant isolate of avian infectious bronchitis virus from Brazil. pp. 149. In: **Proceedings of the 9th International Symposium on Avian Corona- and Pneumoviruses**, Utrecht, The Netherlands, 21-24 June.

FLINT, S. J.; ENQUIST, L. W.; KRUG, R. M.; RACANIELLO, V. R.; SKALKA, A. M. 2000. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control. ASM Press, Washington, DC.

FRAGA, A. P.; BALESTRIN, E.; IKUTA, N.; FONSECA, A. S. K.; SPILKI, F. R.; CANAL, C. W.; LUNGE, V. R. Emergence of a new genotype of avian infectious bronchitis virus in Brazil. **Avian Diseases**, v. 57, p. 225-232, 2013.

FRANÇA, M.; WOOLCOCK, P. R.; YU, M.; JACKWOOD, M. W.; SHIVAPRASAD, H. L. Nephritis Associated with Infectious Bronchitis Virus Cal99 Variant in Game Chickens. **Avian Diseases**, v. 55, n. 3, p. 422–428, 2011.

GALLARDO, R. A.; VAN SANTEN, V. L.; TORO, H. Host Intraspatial Selection of Infectious Bronchitis Virus Populations. **Avian Diseases**, v. 54, p. 807–813, 2010.

GALLAGHER, T. M.; ESCARMIS, C.; BUCHMEIER, M. J. Alteration of the pH dependence of coronavirus-induced cell fusion: Effect of mutations in the spike glycoprotein. **Journal Virology**, v. 65, p. 1916–1928, 1991.

GALLAGHER, T.M.; BUCHMEIER, M.J. Coronavirus spike proteins in viral entry and pathogenesis. **Virology**, v. 279, n. 2, p. 371-374, 2001.

GANDON, S.; DAY, T.; Evidences of parasite evolution after vaccination. **Vaccine**, v. 26, Suppl. 3, c. 4–7, 2008.

GANDON, S.; MACKINNON, M. J.; NEE, S.; READ, A.F. Imperfect vaccines and the evolution of pathogen virulence. **Nature**, n. 414, p. 751–756, 2001.

GEILHAUSEN, H. E.; LIGON, F. B.; LUKERT, P. D. The pathogenesis of virulent and avirulent avian infectious bronchitis virus. **Archives Des Virus Forsch**, v. 40, p. 285-290, 1973.

GEERLIGS, H..J.; BOELM, G. J.; MEINDERS, C. A.; STUURMAN, B. G.; SYMONS, J.; TARRES-CALL, J.; BRU, T.; VILA, R.; MOMBARG, M.; KARACA, K.; WIJMENGA, W.; KUMAR, N. Efficacy and safety of an attenuated live QX-like infectious bronchitis virus strain as a vaccine for chickens. **Avian Pathology**, v. 40, n. 1, p, 93-102, 2011.

GELB JR., J.; WOLFF, J. B.; MORAN, C. A. Variant serotypes of infectious bronchitis virus isolated from commercial layer and broiler chickens. **Avian Diseases**, v. 35, p. 82–87, 1991.

GELB, J.; KEELER, C. L.; NIX, W. A.; ROSENBERGER, J. K.; CLOUD, S. S. Antigenic and S-1 genomic characterization of the Delaware variant serotype of infectious bronchitis virus. **Avian Diseases**, v. 41, p. 661–669, 1997.

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, p. 194–203, 2005.

GOUGH, R. E.; COX, W. J.; WELCHMAN, D.; WORTHINGTON, K. J.; JONES, R. C. Chinese QX strain of infectious bronchitis virus isolated in the UK. **Veterinary Record**, v. 162, p. 99–100, 2008.

GUO, X.; ROSA, A. J.; CHEN, D. G.; WANG, X. Molecular mechanisms of primary and secondary mucosal immunity using avian infectious bronchitis virus as a model system. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 122, n. 3-4, p. 332-343, 2008.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95–98, 1999.

HAN, Z.; SUN, C.; YAN, B.; ZHANG, X.; WANG, Y.; LI, C.; ZHANG, Q.; MA, Y.; SHAO, Y.; LIU, Q.; KONG, X.; LIU, S. A 15-year analysis of molecular epidemiology of avian infectious bronchitis coronavirus in China. **Infection, Genetics and Evolution**, v.11, p. 190-200, 2011.

HANADA, K.; SUZUKI, Y.; GOJOBORI, T. A large variation in the rates of synonymous substitution for RNA viruses and its relationship to a diversity of viral infection and transmission modes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, p. 1074–1080, 2004.

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.

HEWSON, K. A.; NOORMOHAMMADI, A. H.; DEVLIN, J. M.; BROWNING, G. F.; SCHULTZ, B. K.; IGNJATOVIC, J. Evaluation of a novel strain of infectious bronchitis virus emerged as a result of spike gene recombination between two highly diverged parent strains. **Avian Pathology**, v. 43, p. 249–257, 2014.

HIPÓLITO, O. Isolamento e identificação do vírus da bronquite infecciosa das galinhas no Brasil. **Arq Esc Sup Vet**, v. 10, p. 131-63, 1957.

HOFMANN, H.; POHLMANN, S. Cellular entry of the SARS coronavirus. **Trends Microbiology**, v.12, p. 466–472, 2004.

HODGSON, T.; CASAIS, R.; DOVE, B.; BRITTON, P.; CAVANAGH, D. Recombinant infectious bronchitis coronavirus Beaudette with the spike protein gene of the pathogenic M41 strain remains attenuated but induces protective immunity. **Journal Virology**, v. 78, p. 13804–13811, 2004.

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 Virology**, v. 80, p. 296–305, 2006.

HOLMES, E. C. 2009. *The Evolution and Emergence of RNA Viruses*, first ed. Oxford University Press Inc., New York.

HOLMES, E. C. *Fields Virology*, 6th Edition Edited by David M. Knipe and Peter M. Howley. Philadelphia, PA, USA. Lippincott Williams & Wilkins, 2013. cap. 11, p. 302

HON, C. C.; LAM, T. Y.; SHI, Z. L.; **et al.** Evidence of the recombinant origin of a bat severe acute respiratory syndrome (SARS)-like coronavirus and its implications on the direct ancestor of SARS coronavirus. **Journal Virology**, v. 82:1819–1826, 2008.

HOOP, T. P.; WOODS, K. R. Prediction protein antigenic determinants from amino acid sequences. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 78, n. 6, p. 3824-3828, 1981.

HONG, S. M.; KWON, H. J.; KIM, I. H.; MO, M. L.; KIM, J. H. Comparative genomics of Korean infectious bronchitis viruses (IBVs) and an animal model to evaluate pathogenicity of IBVs to the reproductive organs. **Viruses**, v. 4, p. 2670–2683, 2012.

HOPKINS, S. R. Serological comparisons of strains of infectious bronchitis virus using plaque purified isolants. **Avian Diseases**, Kennet Square, v. 18, n. 2, p. 231-239, 1974.

HOPKINS, S. R.; YODER Jr, H. W. Reversion to virulence of chicken-passaged infectious bronchitis vaccine vims. **Avian Diseases**, v. 30, p. 221-223, 1986.

HOFSTAD, M. S. Immune response to infectious bronchitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, p. 520-521, 1975.

IGNJATOVIC, J.; GALLI, L. The S1 glycoprotein but not the N or M proteins of avian infectious bronchitis virus induces protection in vaccinated chickens. **Archives of Virology**, v. 138, p. 117–134, 1984.

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

ITO, N. M. K. *et al.* Controle de variantes do vírus da bronquite infecciosa das galinhas. **Anais da Conferencia Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas**; 2006; Santos, São Paulo. Brasil, p.55- 99.

INTERNATIONAL COMMITTEE FOR TAXONOMY OF VIRUSES - acesso em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>

JACOBS, L.; SPAAN, J. W.; HORZINEK, M. C.;VAN DER ZEIJST, B. A. Synthesis of subgenomic mRNA_s of mouse hepatitis virus is initiated independently: evidence from UV transcription mapping. **Journal Virology**, v. 39, p. 401–406, 1981.

JACKWOOD, M. W.; KWON, H. M.; HILT, D. A. Infectious bronchitis virus detection in allantoic fluid using the polymerase chain reaction and a DNA probe. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 36, n. 2, p.403-409, 1992.

JACKWOOD, M. W.; YOUSEF, N. M. H.; HILT, D. Further development and use of a molecular serotype identification test for infectious bronchitis virus. **Avian Diseases**, Kennet Square, v. 41, n. 1, p.105-110, 1997.

JACKWOOD, M. W.; HILT, D. A.; CALLISON, S. A. Detection of infectious bronchitis virus by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction and identification of a quasispecies in the Beaudette Strain. **Avian Diseases**, v. 47, p. 718-724, 2003.

JACKWOOD, M. W.; BOYNTON, T. O.; HILT, D. A.; MCKINLEY, E. T.; KISSINGER, J. C.; PATERSON, A. H.; ROBERTSON, J.; LEMKE, C. ; MCCALL, A. W.; WILLIAMS, S. M.; JACKWOOD, J. W.; BYRD, L. A. Emergence of a group 3 coronavirus through recombination. **Virology**, v. 398, p. 98–108, 2010

JIA, W.; KARACA, K.; PARRISH, C. R.; NAQI, S. A. A novel variant of avian infectious bronchitis virus resulting from recombination among three different strains. **Archives of Virology**, v. 140, p. 259–271, 1995.

JONES, R. C.; AMBALI, A. G. Re-excretion of an enterotropic infectious bronchitis virus by hens at point of lay after experimental infection at day old. **Veterinary Record**, v. 120, p. 617–620, 1987.

JONES, R. C. Viral respiratory diseases (ILT, aMPV infections, IB): are they ever under control?. **British Poultry Science**, v. 51, n. 1, p. 1–11, 2010.

JORDAN, F. T. W.; NASSAR T. J. The survival of infectious bronchitis (IB) virus in an iodophor disinfectant and the influence of certain components. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 36, p. 335-341, 1973.

KALETA & J. HECKMANN (Eds.), Proceedings of the VII. **International symposium on Corona- and Pneumoviruses and complicating pathogens** pp. pp 74-79). Rauschholzhausen, Germany.

KANT, A.; KOCH, G.; VAN ROOZELAAR, D. J.; KUSTERS, J. G.; POELWIJK, F. A. J.; VAN DER ZEIJST, B. A. M. Location of antigenic sites defined by neutralising monoclonal antibodies on the S1 avian infectious bronchitis virus glycopolyptide, **Journal of General Virology**, v. 73, p. 591–596, 1992.

KATARIA, J. M.; MOHAN, C. M.; DEY, S.; DASH, B. B.; DHAMA, K. Diagnosis and immunoprophylaxis of economically important poultry diseases: A review. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 75, p. 555-567, 2005.

KEELER, C. L. JR.; REED, K. L.; NIX, W. A.; GELB Jr, J. Serotype identification of avian infectious bronchitis virus by RT-PCR of the peplomer (S-1) gene. **Avian Diseases**, v. 42, n. 2, p. 275–284, 1998.

KISS, I.; KECSKEMETI, S.; TANYI, J.; KLINGEBORN, B.; BELAK, S. Preliminary studies on feline coronavirus distribution in naturally and experimentally infected cats. **Research in Veterinary Science**, v. 68, p. 237-242, 2000.

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.

KOFF, W. C.; BURTON, C. R.; JOHNSON, P. R. Accelerating next generation vaccine development for global disease prevention. **Science**, v. 340, n. 6136, Article ID1232910, 2013.

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

KHATCHIKIAN, D.; ORLICH, M.; ROTT, R. Increased viral pathogenicity after insertion of a 28S ribosomal RNA sequence into the haemagglutinin gene of an influenza virus. **Nature**, v. 340, p. 156–157, 1989.

KLASSE, P. J.; MOORE, J. P. GoodCoP, bad CoP? Interrogating the immune responses to primate lentiviral vaccines. **Retrovirology**, v. 9, article 80, 2012.

KUMAR, M. Efficacy and safety of an attenuated live QX-like infectious bronchitis virus strain as a vaccine for chickens. **Avian Pathology**, v. 40, n. 1, p. 93-102, 2011.

KUO, L.; GODEKE, G. J.; RAAMSMAN, M. J. Retargeting of coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain: crossing the host cell species barrier. **Journal Virology**, v. 74, p. 1393–1406, 2000.

KWON, H. M.; JACKWOOD, M. W.; GELB, JR. J. Differentiation of infectious bronchitis virus serotypes using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. **Avian Diseases**, v. 37, p. 194-202, 1993.

KUSTERS, J.G.; JAGER, E. J.; NIESTERS, H. G.; VAN DER ZEIJST, B. A.. Sequence evidence for RNA recombination in field isolates of avian coronavirus infectious bronchitis virus. **Vaccine**, v. 8, p. 605–608, 1990.

LADMAN, B. S.; LOUPOS, A. B.; GELB JR, J. Infectious bronchitis virus S1 gene sequence comparison is a better predictor of challenge of immunity in chickens than serotyping by virus neutralization. **Avian Pathology**, v. 35, p. 127–133, 2006.

LAI, M. M.; CAVANAGH, D. The molecular biology of coronaviruses. **Advances in Virus Research**, v. 48, p. 1–100, 1997.

LAI, M. M. C, HOLMES, K.V. Coronaviridae: the viruses and their replication. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M.; GRIFFIN, D. E.; LAMB, R.A.; MARTIN, M. A.; ROIZMAN, B.; STRAIS, S. E. (Ed.). **Fields virology**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. p. 1163-1185.

LANGEREIS, M. A.; ZENG, Q.; HEESTERS, B.; HUIZINGA, E. G.; GROOT, R. J. The Murine Coronavirus Hemagglutinin-esterase Receptor-binding Site: A Major Shift in Ligand Specificity through Modest Changes in Architecture. **Plos Pathogens**, v. 8, n. 1, p. e1002492, 2012.

LAVERTY, G.; ELBROND, V. S.; ARANASON, S. S.; SKADHAUGE, E. Endocrine regulation of ion transport in the avian lower intestine. **General and Comparative Endocrinology**, v. 15, n. 147, p. 70-7, 2006.

LEE, E .K.; JEON, W. J.; LEE, Y. J.; JEONG, O. M.; CHOI, J. G.; KWON, J. H.; CHOI, K. S. Genetic diversity of avian infectious bronchitis virus isolates in Korea between 2003 and 2006. **Avian Diseases**, v. 52, n. 2, p. 332–7, 2008.

LEE, H. J.; YOUN, H. N.; KWON, J. S.; LEE, Y. J.; KIM, J. H.; LEE, J. B.; PARK, S.Y.; CHOI, I.S.; SONG, C. S. Characterization of a novel live attenuated infectious

bronchitis virus vaccine candidate derived from a Korean nephropathogenic strain. **Vaccine**, v. 28, p. 2887–2894, 2010.

LEE, C. W.; JACKWOOD, M. W. Origin and evolution of Georgia 98 (GA98), a new serotype of avian infectious bronchitis virus. **Virus Research**, v. 80, p. 33–39, 2001.

LI, W.; MOORE, M. J.; VASILIEVA, N. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. **Nature**, v. 426, p. 450–454, 2003.

LIM, T.H.; LEE, H. J.; LEE, D. H.; LEE, Y. N.; PARK, J. K.; YOUN, H. N.; KIM, M. S.; LEE, J. B.; PARK, S. Y.; CHOI, I. S.; SONG, C.S. An emerging recombinant cluster of nephropathogenic strains of avian infectious bronchitis virus in Korea. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, p. 678-85, 2011.

LIN, K. H.; LIN, C. F.; CHIOU, S. S.; HSU, A. P.; LEE, M. S.; CHANG, C. C.; CHANG, T. J.; SHIEN, J. H.; HSU, W. L. Application of purified recombinant antigenic spike fragments to the diagnosis of avian infectious bronchitis virus infection. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 95, p. 233-242, 2012

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. 321–7, 2004.

LIU, S.; CHEN, J.; HAN, Z.; ZHANG, Q.; SHAO, Y.; KONG, X.; TONG, G. Infectious bronchitis virus: S1 gene characteristics of vaccines used in China and efficacy of vaccination against heterologous strains from China. **Avian Pathology**, v. 35, n. 5, p. 394-399, 2006.

LIU, S.; ZHANG, X.; WANG, Y.; LI, C.; LIU, Q.; HAN, Z.; ZHANG, Q.; KONG, X.; TONG, G. Evaluation of the protection conferred by commercial vaccines and attenuated heterologous isolates in China against the CK/CH/LDL/971 strain of infectious bronchitis coronavirus. **The Veterinary Journal**, v. 179, p. 130–136, 2009.

LIU, X.; SHAO, Y.; MA, H.; SUN, C.; ZHANG, X.; LI, C.; HAN, Z.; YAN, B.; KONG, X.; LIU, S. Comparative analysis of four Massachusetts type infectious bronchitis coronavirus genomes reveals a novel Massachusetts type strain and evidence of natural recombination in the genome. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 14, p. 29–38, 2013.

LIU, S.; XU, Q.; HAN, Z.; LIU, X.; LI, H.; GUO, H.; SUN, N.; SHAO, Y.; KONG, X. Origin and characteristics of the recombinant novel avian infectious bronchitis coronavirus isolate ck/CH/LJL/111054. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 23, p. 189–195, 2014.

MADU, L.G.; CHU, V. C.; LEE, H.; REGAN, A. D.; BAUMAN, B. E.; WHITTAKER, G. R. Heparan sulfate is a selective attachment factor for the avian coronavirus infectious bronchitis virus Beaudette. **Avian Diseases**, v. 51, n. 1, p. 45–51, 2007.

MALIM, M. H.; EMERMAN, M. HIV-1 sequence variation: drift, shift, and attenuation. **Cell**, v. 104, p. 469–472, 2001.

MARANDINO, A.; PEREDA, A.; TOMÁS, G.; HERNÁNDEZ, M.; IRAOLA, G.; CRAIG, M. I.; HERNÁNDEZ, D.; BANDA, A.; VILLEGAS, P.; PANZERA, Y.; PÉREZ, R. Phylodynamic analysis of avian infectious bronchitis virus in South America. **Journal of General Virology**, v. 96, p. 1340-1346, 2015.

MASTERS, P. S.; PERLMAN, S. Coronaviridae. *Filds Virology*. Cap. 28. Pp. 825-858. 6th edition, 2013.

MCFERRAN, J. B.; CAHILL, H. T.; YOUNG, J. A.; WRIGHT, C.L. Isolation of infectious bronchitis virus from newborn chicks and dead-in-shell embryos. **Veterinary Record**, v. 89, p. 560-561, 1971.

MCMARTIN, D.A. Infectious bronchitis. In: *Virus infections of birds*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993, 249-274.

MCKINLEY, E.; HILT, D. A.; JACKWOOD, M. W. Avian coronavirus infectious bronchitis attenuated live vaccines undergo selection of subpopulations and mutations following vaccination. **Vaccine**, v. 26, p.1274-1284, 2008.

MEIR, R.; ROSENBLUT, A. E.; PER, A. S.; KASS, B. N.; AYALI, C. G.; HEMSANI, C. E.; PERK, S. Identification of a Novel Nephropathogenic Infectious Bronchitis Virus in Israel. **Avian Diseases**, v. 48, p. 635-641, 2004.

MILLS, C. E.; ROBINS, J. M.; LIPSITCH, M. Transmissibility of 1918 pandemic influenza. **Nature**, v. 432, n. 7019, p. 904–906, 2004.

MIMS, C. A. The Pathogenetic Basis of Viral Tropism. *American Journal of Pathology*, v. 135, n. 3, 1989.

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, p. 437–446, 1986.

MONDAL, S. P.; NAQI, S. A. Maternal antibody to infectious bronchitis virus: its role in protection against infection and development of active immunity to vaccine. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 79, p. 31- 40, 2001.

MONTASSIER, M. F.S; BRENTANO, L.; RICHTZENHAIN, L. J.; MONTASSIER, H. J. Genetic diversity on S1 glycoprotein of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Brazil between 1988-2000. **Proceedings of the 5th International Symposium on Avian Coronavirus**; 2006; Rauschholzhausen. Germany. v.1, p.119-131.

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 gene. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, p.190-194, 2008.

MONTASSIER, H. J. Molecular Epidemiology and Evolution of Avian Infectious Bronchitis Virus. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 2, p. 87-96, 2010.

MONTASSIER, M. F. S.; BRENTANO, L.; RICHTZENHAIN, L. J.; MONTASSIER, H. Molecular analysis and evolution study of infectious bronchitis viruses isolated in Brazil over a twenty-one-year period **Proceedings of the 7th International Symposium on Avian Coronavirus**; 2012; Rauschholzhausen, Germany. v.1. p. 19-30.

MOORE, K.M.; JACKWOOD, M.W.; HILT, D. A. Identification of amino acids involved in a serotype and neutralization specific epitope within the s1 subunit of avian infectious bronchitis virus. **Archives of Virology**, v. 142, p. 2249–2256, 1997.

MORK, A.; Hesse, M.; El-Rahman, S. A.; Rautenschlein, S.; Herrler, G.; Winter, C. Differences in the tissue tropism to chicken oviduct epithelial cells between avian coronavirus IBV strains QX and B1648 are not related to the sialic acid binding properties of their spike proteins. *Veterinary Research*, v.45, n. 67, 2014.

MORRIS, D.R.; GEBALLE, A. P. Upstream Open Reading Frames as Regulators of mRNA Translation. **Molecular and Cellular Biology**, v. 20, n. 23, p. 8635-8642, 2000.

MURPHY, B.R.; AND CLEMENTS, M. L. The systemic and mucosal immune response of humans to influenza A virus. **Curr. Top. Microbiol. Immunol**, v. 146, p. 107–116, 1989.

NAKAMURA, K.; COOK, J. K. A.; OTSUKI, K.; HUGGINS, M. B.; FRAZIER, J. Comparative study of respiratory lesions in two chicken lines of different susceptibility infected with infectious bronchitis virus: histology, ultrastructure and immunohistochemistry. **Avian Pathology**, v. 20, p. 241-257, 1991.

NAQI, S.; GAY, K.; PATALLA, P.; MONDAL, S.; LIU, R. Establishment of persistent avian infectious bronchitis virus infection in antibody-free and antibody-positive chickens. **Avian Diseases**, v. 47, n. 3, p. 594-601, 2003.

NASH, T. C.; BUCHMEIER, M. J. Entry of mouse hepatitis virus into cells by endosomal and nonendosomal pathways. **Virology**, v. 233, p.1–8, 1997.

NAVAS, S.; WEISS, S. R. Murine coronavirus induced hepatitis: JHM genetic background eliminates A59 spike-determined hepatotropism. **Journal of Virology**, v. 77, p. 4972–4978, 2003.

NIESTERS, H. G. M. Molecular and diagnostic clinical virology in real time. **Clinical Microbiology and Infection**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 5-11, 2004.

NIX, W. A.; TROEBER, D. S.; KINGHAM, B. F.; KEELER, C. L. J.; GELB, J.J. Emergence of subtype strains of the Arkansas serotype of infectious bronchitis virus in Delmarva broiler chickens. **Avian Diseases**, v. 44, p. 568- 581, 2000.

NORA, T.; CHARPENTIER, C.; TENAILLON, O. et al. Contribution of recombination to the evolution of human immunodeficiency viruses expressing resistance to antiretroviral treatment. **Journal Virology**, v. 81, p. 7620–7628, 2007

OWEN, R. L.; COWEN, B. S.; HATTEL, A. L.; NAQI, S. A.; WILSON, R. A. Detection of viral antigen following exposure of one-day-old chickens to the Holland-52 strain of IBV. **Avian Pathology**, v. 20, p. 663-73, 1991.

OKINO, C.H.; ALESSI, A.C.; MONTASSIER, M.F.S.; WANG, X.; MONTASSIER, H.J. Humoral and Cell-Mediated Immune Responses to Different Doses of Attenuated Vaccine Against Avian Infectious Bronchitis Virus. **Viral Immunology**, v. 26, n. 4, p. 259-267, 2013.

ORTEGO, J; SOLA, I.; ALMAZAN, F.; CERIANI, J. E.; RIQUELME, C.; BALASCH, M.; PLANA, I.; ENJUANES, L. Transmissible gastroenteritis coronavirus gene 7 is not essential but influences in vivo virus replication and virulence. **Virology**, v. 308, n. 11, p. 13–22, 2003.

OTSUKI, K.; YAMAMOTO, H.; TSUBOKURA, M. Studies on avian infectious bronchitis virus (IBV)-I. Resistance of IBV to chemical and physical treatments. **Archives of Virology**, v. 60, n. 1, p. 25–32, 1979.

PERKINS, F.T. A Ready Reckoner for the Calculation of Geometric Mean Antibody Titres. **Journal of General Microbiology**, v. 19, p. 540-541, 1958.

PEREIRA, C. G.; SARAIVA, G. L.; VIDIGAL, P. M. P.; RANGEL FIETTO, J. L.; BRESSAN, G. C.; MOREIRA, M. A. S.; ALMEIDA, M. R.; SILVA Jr, A. Distribution of infectious bronchitis virus strains in different organs and evidence of vertical transmission in natural infection. **Archives of Virology**, v. 161, n. 12, p. 3355-3363, 2016.

PHILLIPS, J. E.; JACKWOOD, M. W.; MCKINLEY, E. T.; THOR, S. W.; HILT, D. A.; ACEVEDO, N. D.; WILLIAMS, S. M.; KISSINGER, J. C.; PATERSON, A. H.; ROBERTSON, J. S.; LEMKE, C. Changes in nonstructural protein 3 are associated with attenuation in avian coronavirus infectious bronchitis virus. **Virus Genes**, v. 44, p. 63–74, 2012.

PROMKUNTOD, N.; VAN EIJDHOVEN, R. E.; DE VRIEZE, G.; GRONE, A.; VERHEIJE, M. H. Mapping of the receptor-binding domain and amino acids critical for attachment in the spike protein of avian coronavirus infectious bronchitis virus. **Virology**, v. 448, p. 26–32, 2014.

PURCHASE, H. G.; CUNNINGHAM, C. H.; BURMESTER, B. R. Identification and epizootiology of infectious bronchitis in a closed flock. **Avian Diseases**, v. 10, p. 111-121, 1966.

REED, L.J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty per cent end points. **American Journal Hygiene**, v. 27, p. 493-97, 1938.

REN, L.; ZHANG, Y.; LI, J.; XIAO, Y.; ZHANG, J.; WANG, Y.; CHEN, L.; PARANHOS-BACCALÀ, G.; WANG, J. Genetic drift of human coronavirus OC43 spike gene during adaptive evolution. **Nature Scientific Reports**, v. 5, n. 1145, 2015.

ROWE, C. L.; BAKER, S. C.; NATHAN, M. J.; SGRO, J. Y.; PALMENBERG, A. C.; FLEMING, J. O. Quasispecies development by high frequency RNA recombination during MHV persistence. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 440, p. 759-765, 1998.

SAWICKI, S. G.; SAWICKI, D. L. Coronaviruses use discontinuous extension for synthesis of subgenome- lengthnegative strands. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 380, p. 499–506, 1995.

SAWICKI, S. G.; SAWICKI, D. L.; SIDDELL, S. G. A contemporary view of coronavirus transcription. **Journal of Virology**, v. 81, p. 20–29, 2007.

SAWICKI, S. G. Coronavirus Genome Replication. **Viral Genome Replication**, v. 18, p.25-39, 2009.

SAPATS, S. I.; ASHTON, F.; WRIGHT, P.J.; IGNJATOVIC, J. Sequence analysis of the S1 glycoprotein of infectious bronchitis viruses: identification of a novel genotypic group in Australia. **Journal of General Virology**, v. 77, n. 3, p. 413-418, 1996.

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. 7, p. 7889-7894, 1997.

SETHNA, P. B.; HUNG, S. L.; BRIAN, D. A. Coronavirus subgenomic minus-strand RNAs and the potential for mRNA replicons. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 86, p. 5626–30, 1989.

SETHNA, P. B.; HOFMANN, M. A.; BRIAN, D. A. Minus-strand copies of replicating coronavirus mRNAs contain antileaders. **Journal Virology**, v. 65, p320–325, 1991.

SHAHWAN, K.; HESSE, M.; MORK, A.-K.; HERRLER, G.; WINTER, C. Sialic acid binding properties of soluble coronavirus spike (S1) proteins: differences between infectious bronchitis virus and transmissible gastroenteritis virus. **Viruses**, v. 5, n. 8, p. 1924–1933, 2013.

SILVA, E. M. Infectious Bronchitis in Brazilian Chickens: Current Data and Observations of Field Service Personnel. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 3, p. 197–203, 2010.

SNIJDER, E. J.; BREDENBEEK, P. J.; DOBBE, J. C.; THIEL, V.; ZIEBUHR, J.; POON, L. L.; GUAN, Y.; ROZAN, M. V.; SPAAN, W. J.; GORBALENYA, A. E. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS- coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. **Journal of Molecular Biology**, v. 331, p. 991–1004, 2003

STERN, D. F.; SEFTON, B. M. Synthesis of coronavirus mRNAs: kinetics of inactivation of infectious bronchitis virus RNA synthesis by UV light. **Journal Virology**, v. 42, p. 755–9, 1982.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 2731–2739, 2011.

TAUBENBERGER, J. K.; KASH, J. C. Influenza Virus Evolution, Host Adaptation, and Pandemic Formation. **Cell Host & Microbe**, v. 7, n. 17, p. 440-451, 2010.

TERREGINO, C.; TOFFAN, A.; SERENA BEATO, M. et al. Pathogenicity of a QX strain of infectious bronchitis virus in specific pathogen free and commercial broiler chickens, and evaluation of protection induced by a vaccination program based on the Ma5 and 4/91 serotypes. **Avian Pathology**, v. 37, n. 5, p. 487–493, 2008.

THOMPSON, I. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 1994.

TORO, H.; VAN SANTEN, V. L.; JACKWOOD, M. W. Genetic diversity and selection regulates evolution of infectious bronchitis virus. **Avian Diseases**, v. 56, p. 449-455, 2012.

VALASTRO, V.; HOLMES, E. C.; BRITTON, P.; FUSARO, A.; JACKWOOD, M. W.; CATTOLI, G.; MONNE, I. S1 gene-based phylogeny of infectious bronchitis virus: An attempt to harmonize virus classification. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 39, p. 349–364, 2016.

VENNEMA, H. Genetic drift and genetic shift during feline coronavirus evolution. **Veterinary Microbiology**, v. 69, p. 139-141, 1999.

VILLARREAL, L. Y. B.; BRANDÃO, P. E.; CHACÓN, J. L.; ASSAYAG JR, M. S.; MAIORKA, P. C.; RAFFI, P.; SAIDENBERG, A. B. S.; JONES, R. C.; FERREIRA, A. J. P. Orchitis in Roosters with Reduced Fertility Associated with Avian Infectious Bronchitis Virus and Avian Metapneumovirus Infections. **Avian Diseases**, v. 51, p. 900-904, 2007a.

VILLARREAL, L. Y. B.; BRANDÃO, P.E. Molecular Characterization of Infectious Bronchitis Virus Strains Isolated from the Enteric Contents of Brazilian Laying Hens and Broilers. **Avian Diseases**, v. 51, p.974- 978, 2007b.

VILLARREAL, L. Y. B. Diagnosis of Infectious Bronchitis: An Overview of Concepts and Tools. Workshop: Infectious Bronchitis (IB) in the Brazilian Poultry Industry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 2, p. 111–114, 2010.

YOUN, S.; LEIBOWITZ, J. L.; COLLISSON, E. W. In vitro assembled recombinant infectious bronchitis viruses demonstrate that the 5a open reading frame is not essential for replication. **Virology**, v. 332, p. 206–215, 2005.

WANG, L.; JUNKER, D.; COLLISSON, E. W. Evidence of natural recombination within the S1 gene of infectious bronchitis virus. **Virology**, v. 192, p. 710–716, 1993.

WANG, C. H.; TSAI, C. T. Genetic grouping for the isolates of avian infectious bronchitis virus in Taiwan. **Archives of Virology**, v. 141, p. 1677-1688, 1996.

WANG, C. H.; HUANG, Y. C. Relationship between serotypes and genotypes based on the hypervariable region of the S1 gene of infectious bronchitis virus. **Archives of Virology**, v. 145, p. 291-300, 2000.

WANG, X. Q.; SCHNITZLEIN, W. M.; TRIPATHY, D. N.; GIRSHICK, T.; KHAN, M. I. Construction and immunogenicity studies of recombinant fowl poxvirus containing the S1 gene of Massachusetts 41 strain of infectious bronchitis virus. **Avian Diseases**, v. 46, p. 831–838, 2002.

WEAVER, S. C. Evolutionary influences in arboviral disease. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 299, p. 285–314, 2006.

WILLIAMS, A. K.; WANG, L.; SNEED, L. W.; COLLISON, E. W. Comparative analysis of the nucleocapsid genes of several strains of infectious bronchitis viruses and other coronaviruses. **Virus Research**, v. 25, p. 213-222, 1992.

WINTER, C.; SCHWEGMANN-WEßELS, C.; CAVANAGH, D.; NEUMANN, U.; HERRLER, G. Sialic acid is a receptor determinant for infection of cells by avian infectious bronchitis virus. **Journal of General Virology**, v. 87, n. 5, p. 1209–1216, 2006.

World Organization for Animal Health (OIE): 2013, Chapter 2.3.2 Avian infectious bronchitis. In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, 6th ed., pp. 1-15. OIE, Paris, France. Online: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.03.02_AIB.pdf

WORTHINGTON, K. J.; CURRIE, R. J.; JONES, R. C. A reverse transcriptase-polymerase chain reaction survey of infectious bronchitis virus genotypes in Western Europe from 2002 to 2006. **Avian Pathology**, v. 37, n. 3, p. 247–57, 2008.

YASHIDA, S.; AOYAMA, S.; SAWAGUCHI, K.; TAKAHASHI, N.; IRITANI, Y.; HAYASHI, Y. Relationship between several criteria of challenge-immunity and humoral immunity in chickens vaccinated with avian infectious bronchitis vaccines. **Avian Pathology**, v. 14, p. 199-211, 1985.

XIA, J.; HE, X.; YAO, K.; DU, L.; LIU, P.; YAN, Q.; WEN, Y.; CAO, S.; HAN, X.; HUANG, Y. Phylogenetic and antigenic analysis of avian infectious bronchitis virus in southwestern China, 2012–2016. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 45, p. 11–19, 2016.

ZIEGLER, A. F.; LADMAN, B. S.; DUNN, P. A.; SCHNEIDER, A.; DAVISON, S.; MILLER, P. G.; LU, H.; WEINSTOCK, D.; SALEM, M.; ECKROADE, R. J.; GELB, J. JR. Nephropathogenic infectious bronchitis in Pennsylvania chickens 1997– 2000. **Avian Diseases**, v. 46, p. 847–858, 2002.

ZHANG, X.; HERBST, W.; KOUSOULAS, K. G.; STORZ, J. Comparison of the S genes and the biological properties of respiratory and enteropathogenic bovine coronaviruses. **Archives of Virology**, v. 134, n. 3-4, p. 421-426, 1994.

ZHANG, T.; HAN, Z.; XU, Q.; WANG, Q.; GAO, M.; WU, W.; SHAO, Y.; LI, H.; KONG, X.; LIU, S. Serotype shift of a 793/B genotype infectious bronchitis coronavirus by natural recombination. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 32, p. 377–387, 2015.

ZHAO, F.; ZOU, N.; WANG, F.; GUO, M.; LIU, P.; WEN, X.; CAO, S.; HUANG, Y. Analysis of a QX-like avian infectious bronchitis virus genome identified recombination in the region containing the ORF 5a, ORF 5b, and nucleocapsid protein gene sequences. **Virus Genes**, v. 46, p. 454–464, 2013.

ZHAO, Y.; CHENG, J.; LIU, X.; ZHAO, J.; HU, Y.; ZHANG, G. Safety and efficacy of an attenuated Chinese QX-like infectious bronchitis virus strain as a candidate vaccine. **Veterinary Microbiology**, v. 180, p. 49–58, 2015.

ZHOU, S.; TANG, M.; JIANG, Y.; CHEN, X.; SHEN, X.; LI, J.; DAI, Y.; ZOU, J. Complete genome sequence of a novel infectious bronchitis virus strain circulating in China with a distinct S gene. **Virus Genes**, v. 49, 152–156, 2014.