

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA DE ARAÇATUBA**

**BRONQUITE INFECCIOSA AVIÁRIA: SOROLOGIA EM
REGIÃO SEM VACINAÇÃO COMPULSÓRIA**

Juliana Uehara Ramos
Médica Veterinária

ARAÇATUBA - SP
2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA DE ARAÇATUBA**

**BRONQUITE INFECCIOSA AVIÁRIA: SOROLOGIA EM
REGIÃO SEM VACINAÇÃO COMPULSÓRIA**

Juliana Uehara Ramos

Orientadora: Prof^a. Adj. Tereza Cristina Cardoso Silva

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba – Unesp, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção animal).

ARAÇATUBA – SP

2017

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Ramos, Juliana Uehara

R175

Bronquite infecciosa aviária: sorologia em região sem vacinação compulsória / Juliana Uehara Ramos.

Araçatuba: [s.n], 2017.

47f. il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária, 2017

Orientadora: Profa. Adjunto. Tereza Cristina Cardoso Silva

1. Frango de corte 2 .Anticorpos. 3. Bronquite infecciosa.
4.ELISA. 5. Vacinação. I. T.

CDD 641.665



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: BRONquite infecciosa aviária: sorologia em região sem vacinação
compulsória

AUTORA: JULIANA UEHARA RAMOS

ORIENTADORA: TEREZA CRISTINA CARDOSO DA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em **CIÊNCIA ANIMAL**, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. TEREZA CRISTINA CARDOSO DA SILVA
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Prof. Dr. ROBERTO GAMEIRO DE CARVALHO
Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. ANDRÉA FONTES GARCIA
Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium - UniSALESIANO de Araçatuba

Araçatuba, 08 de agosto de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JULIANA UEHARA RAMOS – nascida em 18 de outubro de 1989, na cidade de São José do Rio Preto – SP, formada pelo Centro Universitário de Rio Preto – UNIRP. Vinculada como responsável técnica sanitária em frigorífico avícola desde 2012 até o momento. Iniciou o curso de Pós-Graduação “Stricto Sensu” em Ciência Animal pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp em Março de 2015.

“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa.
Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre”.

Paulo Freire

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus primeiramente por permitir e iluminar os meus caminhos, me concedendo energia, benefícios e discernimento nos momentos de difícil compreensão.

Aos meus amores; minha mãe Elisabete Fuku Uehara Ramos, meu pai Jorge Costa Ramos e noivo João Henrique Boni Guimarães por serem a base, o alicerce que me sustenta, refugia e apoia tornando esse sonho possível.

A empresa privada, a qual, trabalho diariamente que concedeu a oportunidade de me ausentar por inúmeras vezes para a minha presença nesta universidade.

Ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal oferecido pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Medicina Veterinária por me receber e dar a chance de desenvolver esse projeto.

A minha orientadora Tereza Cristina Cardoso Silva que possibilitou eu, mesmo distante realizar esse sonho de forma compreensiva.

Ao laboratório BIOVET que processou as amostras, simplificando a minha relação “trabalho-faculdade”

A professora Silvia Helena Venturoli Perri que com sua ampla experiência em probabilidade e estatística foi fundamental na realização deste.

Aos colegas de pós-graduação Dielson da Silva Vieira e Sheila Pereira Barbosa Freitas por me ajudarem com as dificuldades da realização desta atividade.

Aos professores Rosangela Felipe Rodrigues e Allan Ferraz de Melo por terem sido os grandes instigadores que me impulsionaram a busca por esse curso e até hoje se fazem presentes em minha vida.

Muito obrigada a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para esse trabalho.

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO 1

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS	14
1.1 Introdução	14
1.2 Cenário mundial de produção de frango de corte	14
1.3 Histórico e Distribuição Geográfica	15
1.4 Bronquite Infecciosa Aviária	16
1.4.1 Definição	16
1.4.2 Caracterização e Classificação	17
1.4.3 Patogenia e Sinais clínicos	18
1.5 Vacinação e Prevenção	19
2. OBJETIVOS.....	22
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
4. REFERÊNCIAS	24

CAPÍTULO 2

ARTIGO CIENTÍFICO	30
--------------------------------	-----------

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Soroprevalência para o VBI utilizando ELISA® em relação as regiões R1 e R2	40
Tabela 2 - Soroprevalência em relação aos alojamentos de origem das aves (Integrado ou núcleo)	41

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1

FIGURA 1 - Micrografia eletrônica do vírus da IBV manchado negativamente com ácido fosfotúngstico onde as setas indicam picos na superfície do vírion que estão envolvidos na ligação das células hospedeiras e anticorpos neutralizantes.....17

CAPÍTULO 2

FIGURA 1 - Soroprevalência para o vírus da bronquite infecciosa nas regiões R1 e R2 e a relação com a caracterização dos aviários em núcleo ou integrado37

BRONQUITE INFECCIOSA AVIÁRIA: SOROLOGIA EM REGIÃO SEM VACINAÇÃO COMPULSÓRIA

RESUMO - O Vírus da Bronquite Infecciosa, assim como outras doenças infecciosas, é um dos principais limitantes à produção de frango de corte. O coronavírus responsável por causar essa doença influencia na perda de desempenho das aves acometidas prejudicando o perfil financeiro do setor. Considerando o Brasil hoje, o segundo maior exportador mundial de carne de frango e esse coronavírus altamente contagioso por suas perdas em níveis financeiro e industriais, este trabalho objetivou avaliar a presença do vírus em uma região do noroeste paulista sem vacinação compulsória. Para investigar a presença de anticorpos contra o mesmo, foram coletados de 100 aviários 10 soros de cada, os animais eram alojados de forma aleatória em 2 regiões que formam um ângulo de 360° com a unidade de abate integradora parceira deste trabalho. Por fim, as amostras foram mensuradas através do teste de ELISA® indireto, que abordou o método estatístico χ^2 . Os resultados indicaram que há circulação do vírus $p < 0.1$, demonstrando uma necessidade em se adotar um novo protocolo de vacinação para a região.

Palavras-chave: anticorpos, bronquite infecciosa, ensaio de imunoadsorção enzimática, frango de corte, vacinação.

AVIAN INFECTIOUS BRONCHITIS: SOROLOGY IN REGION WITHOUT COMPULSORY VACCINATION

ABSTRACT - Infectious Bronchitis Virus is one of the main limiting factors for the production of broiler chickens, and is still responsible for the loss of performance of these birds and even motivating high mortality rates. Considering Brazil today, the second largest exporter of poultry in the world and this highly contagious coronavirus, due to its losses to the financier of the industries, this work aimed to evaluate the presence of the virus in a region of the northwest of São Paulo without compulsory vaccination. Thus, to investigate the presence of antibodies against it, 10 sera of each 100 birds were randomly housed in 2 regions that form a 360 degree angle with the integrating slaughter unit partner of this work. Finally, the samples were measured through the indirect ELISA, which approached the chi - square statistical method. The results indicated that there is circulation of the virus $p < 0.1$, demonstrating a need to adopt a new vaccination protocol for the region.

Key words: maternal antibodies, infectious bronchitis, enzyme linked immunosorbent assay, broiler chicken, vaccination.

CAPITULO 1

1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

A avicultura é uma importante parte da produção animal no país, contribuindo consideravelmente com a economia. A carne e os ovos, além de outros produtos, fazem parte do grande mercado consumidor, nacional e mundial. Sendo importante os cuidados a nível de sanidade da granja, já que esses refletem diretamente no consumidor.

Devido à grande demanda evolutiva para acompanhar o processo produtivo, as aves se tornaram susceptíveis a várias doenças infecciosas, dentre elas a bronquite infecciosa, que é causada por um vírus, e seus sintomas levam diretamente a perda de produção, afetando todo o setor aviário a nível econômico. Dessa forma, estudos relacionados a circulação desse vírus se tornam importantes, já que a vacinação é uma forma de controle e prevenção apesar de algumas deficiências.

1.2 CENÁRIO MUNDIAL DE PRODUÇÃO DE FRANGO DE CORTE

A avicultura é considerada um dos setores mais importantes a nível de proteína animal dentro do agronegócio brasileiro e tem conquistado um espaço significativo no cenário mundial, sendo considerado o segundo maior produtor do mundo de carne de frango com um volume de 13,080 milhões de tonelada no ano de 2015, atrás apenas dos EUA (USDA). Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) em 2014 o país encontrava-se como primeiro maior exportador mundial de carne de frango, produzindo um total de 4.099 milhões de toneladas.

A criação de aves no Brasil veio se expandir por volta da década de 1950, período em que houve uma alteração no sistema de produção de frango de corte que anteriormente baseava-se praticamente em avicultura de

subsistência (VASCONCELOS et al., 2015). É possível projetar que os aumentos significativos na produção de frango de corte ocorreram através de investimentos e grandes avanços tecnológicos na cadeia produtiva da avicultura que aliada a participação decisiva de agricultores familiares integrados tornou expressivo o desenvolvimento deste segmento (DECKER; GOMES, 2016).

De acordo com isso, a produção brasileira de carnes apresenta uma cadeia altamente estruturada e que a produção nacional de carne de frango está localizada em quatro principais “estados brasileiros”, o que representa cerca de 70% do total do país caracterizados por modernos sistemas de planejamento, organização, coordenação e incorporações de técnicas gerencias que refletem no constante crescimento da produção (VOILA; TRICHES, 2015).

1.3 HISTÓRICO E DISTRIBUIÇÃO GEOGRAFICA

A primeira descrição da Bronquite Infecciosa (BI) se deu em 1931 nos Estados Unidos por Schalk e Hawn (CAVANAGH; GELB JUNIOR, 2008; POHJOLA et al., 2014). Segundo Hipólito (1957), ao considerar a ocorrência do VBI na América Latina, relata-se que a presença desse vírus foi verificada pela primeira vez na década de 1950 após o isolamento de uma estirpe do sorotipo *Mass* no Brasil.

No Brasil, o primeiro isolamento do vírus foi diagnosticado por Hipólito (1957), e no início da década de 1960 a doença já havia sido notificada em quase todo o mundo (MUNEER et al., 1988). Atualmente há evidências que o vírus esteja espalhado por todo o território brasileiro, pois isolados do VBI já foram identificados em São Paulo, Paraná, Rio de Janeiro e Rondônia (DI FABIO et al., 2000).

Montassier (2010), demonstrou que uma variante genotípica brasileira tem circulado e vem evoluindo desde 1988. Dessa forma, poucos estudos

relacionados a genética da doença foram realizadas no Brasil, e sabemos que são essenciais para determinar essas variantes a fim de caracterizá-las e melhorar as características vacinais do país.

1.4 BRONQUITE INFECCIOSA AVIÁRIA

1.4.1 DEFINIÇÃO

A Bronquite infecciosa (IB) é uma enfermidade aguda, viral e altamente contagiosa que agride principalmente as galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de diferentes idades, doença de distribuição universal que apresenta maior incidência em regiões com alta densidade populacional e embora o vírus tenha tropismo por diversos órgãos, ela acomete principalmente o quadro respiratório que pode ser agravado quando há infecções concomitantes (DI FÁBIO; ROSSINI, 2000; ASSAYAG, 2004), ou até mesmo, falhas de imunidade.

A doença tem prevalência em todos os países com intensiva produção avícola, afetando o desempenho de frangos de corte e suas camadas, além de, causar uma perda econômica considerável na indústria avícola do mundo inteiro (CAVANAGH; GELB JUNIOR, 2008; SUN et al., 2011). O vírus encontra-se sob a forma de um crescente número de diferentes variantes, sorotipos ou genotipos que estão constantemente em mudanças, as quais, podem estar distribuídas de forma global ou local (COOK; JACKWOOD; JONES, 2012).

Essa doença possui um reflexo tão importante no mundo, que está incluída na lista da OIE (Organização Mundial de Saúde Animal) como doença transmissível de notificação anual (OIE, 2017). Sendo dessa forma a prevenção um fator importante a indústria aviária, fato que responde a falta de proteção cruzada eficiente, aumentando o ritmo de interesse no desenvolvimento de novas vacinas (BANDE et al., 2015).

1.4.2 CARACTERIZAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

O vírus da bronquite infecciosa (IBV) é da ordem Nidovirales, família *Coronaviridae* e gênero *Gammacoronavirus* (Grupo III) (CAVANAGH, 2001). De acordo com Canavagh (2007), o VBI é envelopado, caracterizado como um vírus de RNA de cadeia simples, com genoma de aproximadamente 27,6 kb de comprimento que codifica quatro proteínas estruturais; *Spike* (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N). Dessas proteínas virais, destacam-se a proteína N que apresenta uma sequência de nucleotídeos no seu genoma bem conservados, assim como, a glicoproteína S onde a subunidade S1 possui regiões hipervariáveis, mudando constantemente (MCKINLEY et al., 2008).

Segundo Seo et al. (1997), a proteína N desempenha uma importante função na imunidade mediada por células. Cavanagh et al. (1986), destacam que a glicoproteína *Spike* do vírus é composta por dois glicopolipeptídeos S1 (90KD) e S2 (84KD) e o glicopolipetídeo S1 é encontrado na extremidade distal da proteína Spike, além de, conter epítomos importantes que induzem tanto a neutralização do vírus, como o anticorpo inibidor da hemaglutinação.

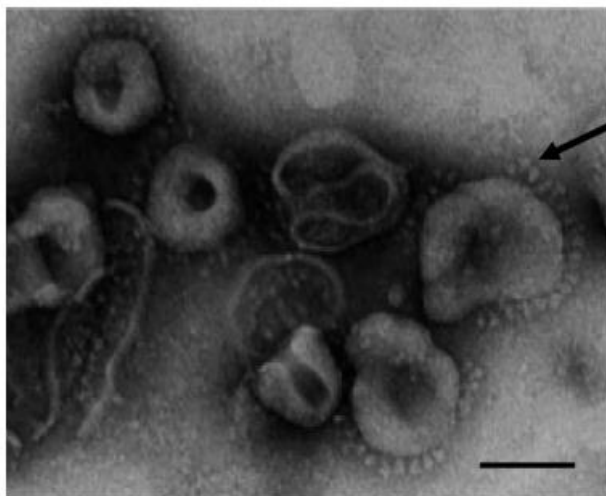


FIGURA 1 – Micrografia eletrônica do vírus da IBV manchado negativamente com ácido fosfotungstático onde as setas indicam picos na superfície do vírion que estão envolvidos na ligação das células hospedeiras e anticorpos neutralizantes. Fonte: Cook et al. (2012).

Dessa forma, relacionada a infectividade viral há com maior probabilidade a relação do glicopolipeptídeo S1, pois este apresenta sítios que se combinam com receptores de células alvo da infecção do VBI, assim, estão presentes próximos ali as menores porções de antígenos que são os responsáveis pela formação de anticorpos neutralizantes (CAVANAGH et al., 1992; CAVANAGH et al., 1997; COOK et al., 1999; FERNANDO, 2013). A sua importância tem sido impulsionada cada vez mais, pela extensiva variação antigênica que esta relacionada diretamente a essa proteína de superfície S, que é capaz de gerar alterações como deleções, inserções, recombinações e mutações que ocorrem continuamente na natureza levando ao aparecimento de múltiplos fenótipos (CAVANAGH; NAQI, 2003).

Contudo, mutações e recombinações ocorrem constantemente e de tempos em tempos surgem novas variantes antigênicas do vírus diferente dos existentes já conhecidos, onde a nomenclatura e a classificação se tornam inconstantes, sendo assim, criou-se um sistema unificado e internacional de padronização da nomenclatura do coronavírus aviário, recomendando o uso como gênero CoV / AvCoV / hospedeiro / identificação do espécime / ano para se referir aos seus sorotipos (DUCATEZ M.F; THE EUROPEAN UNION COST ACTION FA1207, 2016).

1.4.3 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

Embora o nome da doença se dê por ela possuir um grande reflexo no sistema respiratório das aves, fato que ocorre para evitar possíveis confusões, a ampla diversidade dos tipos de vírus da Bronquite Infecciosa (VBI) apresenta uma grande variedade quanto ao tropismo, além de possuir múltiplas

manifestações clínicas da doença (DI FABIO; BUITRAGO, 2009). O vírus espalha-se rapidamente entre aves do rebanho, é altamente contagioso e tem um período de incubação muito curto acometendo aves de diversas idades (CAVANAGH; GELB JUNIOR, 2008).

Apesar das aves em todas as idades serem susceptíveis ao vírus, a doença clínica é mais grave em aves jovens, devendo-se lembrar que fatores intrínsecos como idade e raça e fatores extrínsecos como nutrição, infecções intercorrentes e meio ambiente estão ligados diretamente a patogênese da infecção (MENDONÇA et al., 2009).

Responsável por alta morbidade (80%) e baixa mortalidade (20%) as perdas são suportadas pela redução da produção de ovos, bem como, na piora da qualidade, infertilidade, atraso no crescimento e aumento da susceptibilidade a infecções secundárias (DHAMA et al., 2014). O vírus se replica não só no epitélio da parte superior e tecidos inferiores do sistema respiratório, mas também em tecidos ao longo do trato digestivo e em outros lugares como por exemplo rins, ovidutos e testículos, bem como, em materiais fecais e respiratórios (CAVANAGH, 2007).

De acordo com Montassier et al. (2008) não há lesões patognomônicas para o VBI, no entanto, o exame histopatológico pode ser um recurso para verificar a diminuição dos cílios, descamação do epitélio, presença de células inflamatórias, além de, vacuolização e hemorragia na submucosa. Dessa forma, a presença dos sinais inespecíficos dificulta o diagnóstico, sejam eles clínicos ou produtivos.

1.5 VACINAÇÃO E PREVENÇÃO

Quando se fala de produção animal, um dos principais cuidados são as exigências vacinais de cada criatório, deve-se conhecer a realidade de todas as vacinas utilizadas na região, saber da particularidade de cada uma delas, conhecer a fisiologia imunológica das aves, compreender sobre desafios que

podem afetar a vacinação e auxiliando na escolha de um programa adequado de acordo com a necessidade de cada plantel (MATEUS; SANTOS, 2011).

CANAVAGH (2007), afirma que a utilização de vacinas vivas atenuadas e inativadas, assim como medidas de biossegurança e a realização de um controle sanitário rigoroso são medidas importantíssimas para o controle de doenças como a bronquite infecciosa. Bijlenga et al. (2004); Mckinley et al. (2008), partindo desse princípio relatam que uma melhor imunidade local é conferida ao se usar vacinas vivas atenuadas, no entanto, pode existir um risco de patogenicidade residual, reversão da virulência e talvez resistência.

Vacinas do sorotipo *Massachusetts* são usadas como alternativas para o controle do surto do VBI e que a busca para uma resposta imune mais eficiente pode estar ligada desde aos cuidados necessários na vacinação até estratégias de revacinação (ASSAYAG, 2009; MONTASSIER et al., 2008). Juntamente com a falta de conhecimento das proteínas virais e a interação de células hospedeiras, há um difícil controle da doença devido a emergência de novos sorotipos que continuam se desenvolvendo (JORDAN, 2016).

A grande quantidade de variantes do VBI dificulta a forma de relacionar a melhor estratégia de vacinação para proteção, embora a genotipagem tenha vantagens de facilidade e velocidade para tal. Além disso ressalta-se que a proteção cruzada oferecida as aves vacinadas está diretamente condicionada as diferenças gênicas ou antigênicas (DE WIT; COOK; HEIJDEN, 2011). Recomendar um protocolo padrão para a realização de estudos com o objetivo de licenciar vacinas tornou-se difícil, uma vez que, existe um claro desacordo entre grupos de trabalhadores em relação as diretrizes impostas pelas autoridade reguladoras que seguem as normas nacionais e/ou internacionais (DE WIT; COOK, 2014).

A vacina então pode ser considerada uma alternativa para doenças infecciosas em aves, desde que se tenha um estudo prévio das estirpes presentes em determinado local, favorecendo a formação da imunidade nas

aves. Porém sabemos que esses estudos possuem suas dificuldades, e são comumente mais realizados em ambientes de ensino.

2 OBJETIVOS

- a) Avaliar a presença de anticorpos para o vírus da bronquite infecciosa em uma determinada região do noroeste paulista sem vacinação compulsória.
- b) Analisar a soroprevalência para o vírus em relação a duas subunidades da região.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- a) O presente estudo forneceu informações importantes para a análise de uma região sem vacinação compulsória para bronquite infecciosa.
- b) Os dados apresentados sugerem que há sorotipos circulantes na região.
- c) No entanto, mais estudos são necessários para demonstrar o perfil dos sorotipos que circundam a região em análise.

4 REFERÊNCIAS

ABPA. **Abpa**: estatística do mercado mundial. 2014. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/mercado-mundial7>>. Acesso em: 20 jun. 2017.

ASSAYAG JÚNIOR, M.; S. **Características patogênicas e moleculares de variantes brasileiras do vírus de bronquite infecciosa inoculados em aves comerciais e SPF**. (Tese Doutorado em microbiologia). Instituto de Ciências Biomedicas da Universidade de São Paulo, 2009.

BAND, F.; ARSHAD, S. S.; HAIR BEJO, M.; MOEINI, H.; OMAR A. R. Progress and challenges toward the development of vaccines against avian infectious bronchitis. **Journal of Immunology Research**, v. 2015, 2015.

BIJLENGA, G.; COOK, J. K.; GELB JUNIOR, J.; WIT, J. D. 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.

CAVANAGH, D.; DAVIS, P. J. DARBYSHIRE, J. H.; PETERS, R. W. Coronavirus IBV: virus retaining spike glycopolypeptide S2 but not S1 is unable to induce virus-neutralizing or haemagglutination-inhibiting antibody, or induce chicken tracheal protection. **Journal of General Virology**, v. 67, n. 7, p. 1435-1442, 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, n. 1, p. 33-43, 1992.

CAVANAGH, D.; ELUS, 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, n. 1, p. 63-74, 1997.

CAVANAGH, D. A nomenclature for avian coronavirus isolates and the question of species status. **Avian Pathology**, v. 30, n. 2, p. 109-115, 2001.

CAVANAGH, D.; NAQI, S. Infectious bronchitis. In: SAIF, Y.M. **Diseases of poultry**. 11 ed. Ames: Iowa State University Press, 2003. p.101-119.

CAVANAGH, D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. **Veterinary Research**, v. 38, n. 2, p. 281-297, 2007.

CAVANAGH D.; GELB JUNIOR, J. Infectious bronchitis. In: SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry**. 12 ed., Ames: Iowa State University Press, 2008. p.117-135.

COOK, J. K.; 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, n. 5, p. 477-485, 1999.

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

DECKER, S. R. F.; GOMES, M. C. Análise do desempenho e participação da agricultura familiar na avicultura de corte na região sul do rio grande do Sul/Brasil. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 6, n. 1, p. 15-25, 2016.

DE WIT, J. J.; COOK, J. K. A. Factors influencing the outcome of infectious bronchitis vaccination and challenge experiments. **Avian Pathology**, v. 43, n. 6, p. 485-497, 2014.

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: PJBS**, v. 17, n. 6, p. 751-767, 2014.

DI FABIO J., ROSSINI L. I. Bronquite infecciosa das galinhas. In: BERCHIERI JUNIOR, A., MACARI M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA: 2000. p. 293-300.

DI FABIO, J.; BUITRAGO, L. Y. V. Bronquite infecciosa das galinhas. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA: 2009. p. 631-648.

DI FABIO, J.; ROSSINI, L. I.; ORBELL, S. J.; PAUL, G.; HUGGINS, M. B.; MALO, A.; SILVA, B.; COOK, J. Characterization of infectious bronchitis

viruses isolated from outbreaks of disease in commercial flocks in Brazil. **Avian Diseases**, v.44, p.582-589, 2000.

DUCATEZ, M. F. Recommendations for a standardized avian coronavirus (AvCoV) nomenclature: outcome from discussions within the framework of the European Union COST Action FA1207:“towards control of avian coronaviruses: strategies for vaccination, diagnosis and surveillance”. **Avian Pathology**, v. 45, n. 5, p. 602-603, 2016.

FERNANDO, F.S. **Avaliação da patogenicidade e da imunidade cruzada de estirpe variante do vírus da bronquite infecciosa aviária isolada no Brasil**. Dissertação em Patologia Animal. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2013.

JORDAN, B.; Vaccination against infectious bronchitis virus: a continuous challenge. **Veterinary Microbiology**, 2017.

MATEUS, M. C.; DOS SANTOS, J. M. G.; Imunização em frangos de corte. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 4, n. 2, 2011.

MCKINLEY, E. T.; HILT, D. A.; JACKWOOD, M. W. Avian coronavirus infectious bronchitis attenuated live vaccines undergo selection of subpopulations and mutations following vaccination. **Vaccine**, v. 26, n. 10, p. 1274-1284, 2008.

MENDONÇA, J. F. P.; MARTINS, N. R. S.; CARVALHO, L. B.; SÁ, M. E. P.; MELO, C. B. Bronquite infecciosa das galinhas: conhecimentos atuais, cepas e vacinas no Brasil. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2559-2566, 2009.

MONTASSIER, M. D. F. S.; BRETANO, L.; MOTASSIER, 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, n. 3, p. 190-194, 2008.

MONTASSIER, H. J. Molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 12, n. 2, p. 87-96, 2010.

MUNEER, M.; NEWMAN, J.; HALVORSON, D.; SIVANANDAN, V.; NAGARAJA, K.; COON, C. Efficacy of infectious bronchitis virus vaccines against heterologous challenge. **Research in Veterinary Science**, v.45, n.1, p.22-27, 1988.

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal. Avian disease and infections. In **OIE-Listed diseases, infections and infestations in force**. 2017. Disponível em: <<http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2017/>> Acesso em: 03 jul. 2017.

POHJOLA, L. K.; EK-KOMMONEN S. C.; TAMMIRANTA, N. E.; KAUKONEN, E. S.; ROSSOW, L. M.; HUOVILAINEN, T. A. Emergence of avian infectious bronchitis in a non-vaccinating country. **Avian Pathology**, v. 43, n. 3, p. 244-248, 2014.

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.

SUN, C.; HAN, Z.; MA, H.; ZHANG, Q.; YAN, B.; SHAO, Y.; XU, J.; KONG, X.; LIU, S. Phylogenetic analysis of infectious bronchitis coronaviruses newly isolated in China, and pathogenicity and evaluation of protection induced by Massachusetts serotype H120 vaccine against QX-like strains. **Avian Pathology**, v. 40, n. 1, p. 43-54, 2011.

USDA. **Brasil**: segundo maior produtor mundial de carne de frango. 2015. Disponível em: <http://www.revistadoavisite.com.br/web/pub/avisite/index2/?numero=99&pg=22#page/22>>. Acesso em: 20 jun. 2017.

VASCONCELOS, M. C.; SILVA, C. L.; MEZA, M. L .F. G.; BASSI, N. S. S. Trajetória Tecnológica da cadeia produtiva do frango de corte no Brasil. **Iniciação Científica Cesumar**, v. 17, n. 1, p. 15-27, 2015.

VOILA, M.; TRICHES, D. A cadeia de carne de frango: uma análise dos mercados brasileiro e mundial de 2002 a 2012. **Revista Teoria e Evidência Econômica**, v. 21, n. 44, p. 126-148, 2015.

CAPITULO 2

ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA EM AVES NÃO VACINADAS DA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL

INFECTIOUS BRONCHITIS VIRUS ANTIBODIES IN BROILER FROM SÃO PAULO NORTHWEST REGION, BRAZIL

Juliana Uehara Ramos¹, Dielson da Silva Vieira², Silvia Helena Venturoli Perri³,
Tereza Cristina Cardoso Silva⁴

¹ Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/FMVA-UNESP R. Clóvis Pestana, 793 – CEP 16050680 – Araçatuba – SP – Brasil. Tel.:+55(18)3636-1400. juliana.u.ramos@hotmail.com

²Doutorando do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/FMVA-UNESP - R. Clóvis Pestana, 793 – CEP 16050680 – Araçatuba – SP – Brasil.

³ Docente Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/FMVA-UNESP - R. Clóvis Pestana, 793 – CEP 16050680 – Araçatuba – SP – Brasil.

⁴ Docente Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/FMVA-UNESP - R.
Clóvis Pestana, 793 – CEP 16050680 – Araçatuba – SP – Brasil.

RESUMO

O consumo de ovos e carne, em quase todos os países do mundo, está ligado à importância protéica e dietética destes produtos. Muitos métodos e novas técnicas foram empregados no melhoramento das aves para se obter uma grande produção, favorecendo também ao aumento de susceptibilidade as doenças infecciosas, principalmente as viroses. A bronquite infecciosa (BI) é um vírus causador de uma doença viral que afeta o sistema respiratório das aves domésticas e silvestres, causando enormes perdas econômicas para a indústria avícola em todo o mundo. Este trabalho objetivou avaliar a soroprevalência do vírus em granjas do noroeste paulista que não realizam vacinação compulsória e necessária. Foram coletados soros de 1000 aves provenientes de duas regiões presentes no noroeste paulista. Para investigar a presença de anticorpos para o vírus da bronquite infecciosa (VBI), os títulos foram medidos através do teste sorológico ELISA® indireto, sendo considerados positivos os aviários que apresentaram pelo menos uma amostra sororeagente na densidade óptica (DO) ≥ 0.2 . Foi observado uma positividade para anticorpos Anti-VBI de 34% no total das regiões estudadas (R1 e R2, $p < 0,1$), sendo que na R2 a positividade foi maior (41,51%) e em relação ao sistema de criação a positividade foi maior nos núcleos (52,63%). Dessa forma, percebe-se a circulação do coronavírus na região do noroeste paulista, demonstrando a importância da vacinação, visto que o vírus da bronquite infecciosa afeta diretamente a produção e viabilidade das aves.

Palavras-chave: aves, bronquite infecciosa, prevenção, sorologia, vacinação.

INTRODUCAO

A exportação brasileira de carnes vem crescendo constantemente no mercado internacional e se destacando principalmente para a produção de frango de corte. De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), até 2020, espera-se que a carne de frango tenha 48,1% das exportações mundiais, o que manterá o Brasil na posição de primeiro exportador mundial (MAPA, 2017).

A alta densidade imposta pelos modelos de produção avícola contribui para um decréscimo na qualidade de ar oferecido as aves, uma vez que, esses animais apresentam características evolutivas para alta eficiência respiratória (Wit *et al.*, 2011). Esse tipo de sistema leva a presença de enfermidades que acometem o sistema respiratório, estas, mais frequentemente encontradas na avicultura (Inoue & Castro, 2009; Wit *et al.*, 2011).

O vírus da Bronquite Infecciosa (VBI) é o causador de uma doença que está na lista da Organização Internacional de Epizootias (OIE), mundialmente reconhecida como uma das doenças maior reflexo econômicos na produção comercial de aves de capoeira e o seu potencial para efeitos negativos no comércio (Bagust, 2013). Para evitar perdas econômicas associadas à morbidade, problemas no ganho de peso, diminuição na produção de ovos e mortalidade as vacinas para VBI devem ser administradas rotineiramente e seguindo protocolos corretos (Liu *et al.*, 2009).

A doença de Newcastle e a influenza aviária são consideradas como causadoras de grande perda econômica, não ficando atrás também das demais

doenças vacinais como a laringotraqueíte infecciosa, a síndrome da cabeça inchada, da mesma forma que a bronquite infecciosa que é considerada entre essas últimas três a de maior importância devido a sua ampla disseminação. A infecção viral para o VBI ocorre praticamente em todo o lote, entretanto, os resultados são dependentes da virulência do sorotipo infectante, idade dos animais, além da imunidade materna ou ativa (Landman *et al.*, 2006; Yan *et al.*, 2016).

Há vários fatores que dificultam o entendimento sobre o procedimento da duração da aquisição da imunidade para bronquite infecciosa como a variação na virulência, os vários sorotipos além da necessária proteção (Cavanagh & GelbJulior, 2008). Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a soropositividade de aves presentes em regiões sem vacinação compulsória localizada, para se estabelecer a importância da vacinação para uma determinada região do estado de São Paulo, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de granjas e região de estudo

O experimento foi realizado em granjas de uma unidade de abate de frango de corte na região do noroeste paulista que não realizam vacinação compulsória para o VBI. No estudo, foram selecionados 100 aviários de frango de corte em terço final de produção, destes, foram coletadas 10 amostras de soro de cada aviário, totalizando 1000 amostras. As aves eram provenientes

das seguintes linhagens comerciais; Cobb 500, CobbSlow, Ross Ap 96 e Hubbard Flex e foram criadas sob condições industriais e alojadas de forma aleatória em aviários que se dividem entre pressão positiva, negativa e “darkhouse”. As granjas foram divididas em duas regiões para fins de comparação de soroprevalência, assim como, também foi analisado se os resultados tinham alguma relação com a distância entre uma granja e outra. O critério utilizado para classificá-las foi a distância do raio entre elas agrupadas naquelas que se encaixavam em um raio menor que 15 km e nas que estavam no grupo de raio maior que 15.

Descrição geográfica

As regiões em análise foram divididas em duas partes, através das rodovias que interligam as cidades de Jales à Guapiaçu/SP (SP-320, BR-456, BR-153, BR-265), seguindo os seguintes critérios:

R1 (Região nova) representada por 47 granjas, que são classificadas por apresentarem menos desafios virais. A maior parte da coleta provém de grupos de aviários de integrados que possuem aviários no estilo “darkhouse” e pressão negativa, alguns possuíam galpões de pressão positiva presentes há mais de 25 anos. Essa região é caracterizada por apresentar galpões com um maior grau de modernidade.

R2 (Região antiga) caracterizada pela presença de 53 granjas, as quais possuem distribuição com presença de aviários integrados ou núcleos. É a região com aviários mais antigos da empresa, com estruturas com menor grau

de modernidade, mais defasados, possuindo também mais de 25 anos de atuação. Algumas das granjas são “darkhouse”, contudo representam minoria nesse grupo.

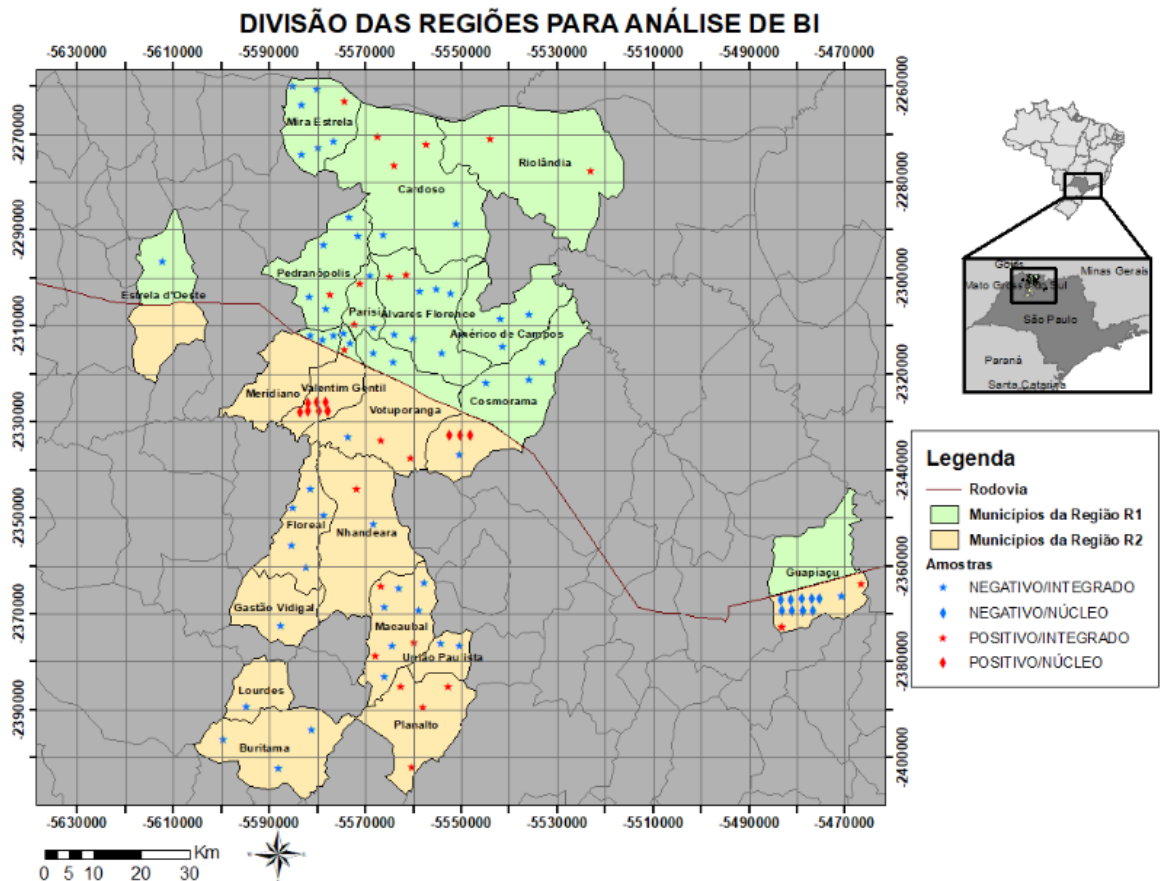


Figura 1 - Soroprevalência para o vírus da bronquite infecciosa nas regiões R1 e R2 e a relação com a caracterização dos aviários em núcleo ou integrado.

Coleta e Análise das amostras

Um formulário de coleta foi preenchido com os seguintes dados: nome da granja, da coleta, idade do plantel, cidade dos aviários amostrados e a procedência de cada lote distinguindo entre integrados (granjas de produtores parceiros da integradora composta por no máximo 3 aviários, podendo alojar aves oriundas do mesmo incubatório ou não) e núcleos (unidades da empresa formada por no mínimo 8 granjas e máximo de 20 que alojam um grupo de aves da mesma espécie e idade, porém provenientes de incubatórios diferentes) de acordo com as denominações da empresa fornecedora dos animais.

O sangue foi coletado diretamente nas granjas por meio de venopunção aspirativa (1,0 mL/ave) da veia braquial com o auxílio de uma seringa de 3 mL. O material permaneceu em temperatura ambiente por aproximadamente 1 dia para que houvesse a precipitação do soro, este, foi separado e armazenado à -20°C. Para realização do ELISA®, os soros foram enviados a 4-8°C para o laboratório da BIOVET.

Ensaio imunoenzimático (ELISA®)

A avaliação sorológica foi realizada por meio da técnica imunoenzimática de ELISA® através do kit comercial da BIOCHEK seguindo as recomendações do fabricante. O teste teve como intuito mensurar a quantidade de anticorpos para VBI (vírus da bronquite infecciosa) no soro de galinhas. Os

poços das microplacas foram sensibilizados com o antígeno viral inativado para IBV. Os soros foram diluídos e adicionados aos poços das microplacas buscando-se avaliar a presença do anticorpo anti-VBI. As proteínas e anticorpos não específicos foram eliminados por lavagem e purificação.

O conjugado IgG Anti-galinha foi marcado com a enzima fosfatase alcalina, objetivando a reação e a identificação da titulação. Depois de um ciclo de lavagem para eliminar o conjugado que não reagiu, o substrato é colocado nas microplacas na forma de cromógeno Pnpp®. Foi utilizado um leitor Elx800 (BIOTEK) para a leitura das microplacas de titulação, sendo a leitura feita no filtro de 405 nm. Foram considerados aviários positivos aqueles que apresentaram pelo menos uma amostra sororeagente com uma densidade óptica (DO) ≥ 0.2 .

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do software estatístico SAS – Statistical Analysis System (SAS, 2016) que abordou o método estatístico Qui-Quadrado (χ^2) com significância estatística de 10% ($P \leq 0.1$).

RESULTADOS

Nos aviários avaliados 34% (34/100) dos soros foram considerados positivos e 66% (66/100) negativos, onde 81% (81/100) das amostras são provenientes de integrados e 19% (19/100) de núcleos, não levando em conta as diferenças específicas entre as regiões R1 e R2. Esses fatores são

observados na Figura 1, onde fica evidente a relação da soroprevalência para o VBI nas regiões de estudo com as variáveis analisadas.

Ao compararmos as regiões com soropositividade para os anticorpos do VBI, a região R1 apresentou 25.53% (12/47) de amostras positivas e 74.47% (35/47) de negativas, enquanto que na R2 41.51% (22/53) tiveram positividade e 58.49% (31/53) foram negativas, havendo diferença significativa ($p=0.092$), como observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Soroprevalência para o VBI utilizando ELISA em relação as regiões R1 e R2

Regiões				
R1*			R2*	
ELISA	n	%	n	%
Positivo	12	25.53	22	41.51
Negativo	35	74.47	31	58.49
Total	47	100	53	100

* $p=0.092$

Quando analisamos a relação do alojamento das aves com a soropositividade (Tabela 2), observou-se significância ($p=0.05$) entre as variáveis granjas integradas e granjas núcleo. Sendo dos integrados positivas

24/81 (29.63%) e dos negativas 57/81 (70.37%), já quando se tratava de granjas núcleos 10/19 (52.63%) apresentaram positividade e 9/19 (47.37%) negatividade.

Tabela 2 - Soroprevalência em relação aos alojamentos de origem das aves (Integrado ou núcleo)

Tipos de granjas		
ELISA	Integrado*	Núcleo*
Positivo	24	10
Negativo	57	9
Total	81	19

*p=0.05

Entretanto, no momento que investigamos os aviários sororeagentes e a relação de proximidade com outras granjas, observando-se o raio de 15 km, não foi considerada diferença estatística ($p = 0.69$).

DISCUSSÃO

Este estudo revelou que há circulação do vírus da bronquite infecciosa na região do noroeste paulista ($p < 0,1$). Sabe-se que a presença de um genótipo brasileiro “genótipo BR-I” foi relatado por todo o território do Brasil,

assim como, tem sido encontrado em territórios distantes, incluindo outros países da América Latina (Chacon *et al.*, 2011; Balestrin *et al.*, 2014). Segundo Jackwood (2013) na América Latina são encontradas uma extensa diversidade genética de estirpes do vírus da BVD, devido a sua rápida replicação e alta taxa de mutação, assim como, estão presentes no Brasil os sorotipos Arkansas, Massachusetts, 793B (4/91) e três únicas variantes BR1, BR2 e BR3. Fator considerado extremamente importante por influenciar nos problemas relacionados a prevenção da doença.

Como observado na Tabela 1, tanto R1, quanto R2, exibiram anticorpos para o vírus, ou seja, as aves de ambas as regiões, independentes das suas diferenças fenotípicas, em algum momento da vida entraram em contato com o vírus, seja por desafios presente no ambiente ou no pré alojamento. Em um estudo feito por Pohjola *et al.* (2014) ao avaliarem a origem do VBI na Finlândia, região em que não se realizava a vacinação, encontraram a presença dos genótipos D274 e / ou 4/91, confluindo na ideia de que a presença destes genótipos talvez tenha chegado ao país por animais vacinados em outros locais. Sendo então um fator importante ao se estudar a VBI, a relação entre a migração de animais, assim como, a compra e venda de animais de outras localidades.

A presença do vírus na R2 também pode estar ligada as demais integradoras presentes na região com diferentes tipos de protocolos de manejo e vacinações (Figura 1, $p = 0.092$). No entanto, os 25.53% de positividade da R1 (Figura 1) pode estar relacionada as aves de fundo de quintal localizadas

nas propriedades vizinhas, ou até mesmo, pela presença de aves silvestres concentradas nessa região, que se trata de uma área próxima a rios e lagos. Estudos anteriores demonstraram que o contato entre aves caipiras com aves aquáticas vizinhas ou aves selvagens foram importante para a propagação e a manutenção de doenças infecciosas (Wang *et al.* 2013; Pohjola, 2014).

No presente estudo não houve diferença significativa quando comparado a distância entre as granjas (Raio 15 km, $p=0.69$). Entretanto, de acordo com Instrução Normativa nº 56 que entrou em vigor em 6 de dezembro de 2007 lançada pelo MAPA os estabelecimentos avícolas devem estar localizados em área não sujeita a condições adversas que possam interferir na saúde e bem-estar das aves, tendo que ser respeitada a distância mínima de 3 km entre outros estabelecimentos avícolas de reprodução, abatedouros ou fábrica de ração (MAPA, 2007). Segundo o MAPA (2013), a introdução das doenças pode ocorrer por meio do trânsito de passageiros, importação de animais, de material genético, de produtos biológicos, além da transmissão por aves migratórias. Essas informações aliadas aos estudos realizados por Ribeiro *et al.* (2010) sobre a percepção ambiental referente aos processos de uma granja de postura, refletem sobre os cuidados com o controle sanitário das granjas, sendo parte essencial do processo produtivo.

A sopositividade de 29.63% relaciona-se com dados encontrados por Dixon (2015) que através de um estudo de caso da indústria agroalimentar do Egito avaliaram que a biossegurança em grande parte foi elemento crucial para que esse tipo de indústria se consolidasse através de doenças com potencial

zoonótico, emergentes e recorrentes. Ou seja, acreditamos que o fato desses aviários serem menos expostos a desafios virais, também possa estar ligado a pressão sanitária exercida nos núcleos, seja pelas diversas procedências de origem das aves, como pela densidade populacional desse local (52.63%)

A baixa soropositividade para anticorpos Anti-VBI que representa os 34% totais das granjas ressaltam a necessidade de estudos acerca das formas de prevenção das doenças infecciosas na criação de aves. Tanto, medidas sanitárias quanto a vacinação podem influenciar na proteção imunológica de lotes de aves. Os sorotipos vacinais recém desenvolvidos são favorecidos pela pressão de seleção, mutação ou recombinação, fato considerado decisivo quando se tratam das graves perdas econômicas que em grande parte se deve pela falta de métodos de diagnóstico e vacinas eficazes de controlar surtos de vírus clássicos e sorotipos emergentes (Bande *et al.*, 2015).

Logo, os 66% das amostras consideradas negativas são ocorrências preocupantes ao se pensar que estas, estão susceptíveis ao vírus. Kouakou *et al.*, (2015) ao buscarem a prevalência do vírus da Doença de *Newcastle* (DNC) e do VBI em Costa do Marfim avaliaram que ambos os agentes patogênicos são endêmicos no país, visto que, este estudo foi a primeira investigação realizada na área, além de relataram também que as fazendas comerciais de aves domésticas analisadas no estudo vinham vacinando seus rebanhos com a cepa Massachusett 41 (M41), uma vez que, não se conhecia até o momento as características das cepas circulantes.

De Wit *et al.*, (2011) ressaltam que embora haja disponibilidade de comercialização de vacinas vivas-atenuadas e inativadas disponíveis para VBI no mundo inteiro, deve-se levar em consideração que a necessidade das vacinas não pode ser exagerada, tanto quanto, pode ser preciso mudar de alguma forma os programas de vacinação de uma determinada região, usando vacinas licenciadas para buscar melhorar a proteção contra as variantes do vírus. Ao mesmo tempo, segundo Jackwood (2012) a demora em desenvolver vacinas específicas para uma área de urgência é determinante para evitar erros como a escolha de uma vacina viva atenuada em uma região que desconhece o tipo do VBI, portanto, não recomenda o uso devido a capacidade de mutação do vírus e este se recombinar com outros. Dessa forma, a vacinação e o manejo sanitário se tornam parte importante na garantia da qualidade dos animais e seus produtos.

CONCLUSÕES

Foi observada a soroprevalência do VBI aviária no noroeste paulista, havendo maior positividade na região mais antiga (R2) em termos de produção de aves e nas granjas reconhecidas como núcleos. Sendo então a vacinação um fator importante na prevenção do VBI, aliada a um manejo sanitário adequado, visto que, o coronavírus está presente nessa região sem vacinação compulsória.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de expressar a nossa gratidão ao laboratório BIOVET, assim como, a empresa integradora que permitiu a realização das coletas para a pesquisa.

REFERÊNCIAS

Bagust TJ. Poultry health and disease control in developing countries. the role of poultry in human nutrition ; 2013, 96.

Balestrin E, Fraga AP, Ikuta N, Canal CW, Fonseca AS, Lunge VR. Infectious bronchitis virus in different avian physiological systems—A field study in Brazilian poultry flocks. Poultry Science 2014; 93(8): 1922-1929.

Bande, F, Arshad SS, Hair Bejo M, Moeini H, Omar AR. Progress and challenges toward the development of vaccines against avian infectious bronchitis. Journal of Immunology Research 2015; 2015.

Cavanagh D, Gelb JJ. Disease of poultry. 12 ed. In: YM Saif, editor. Infectious Bronchitis Ames : Blackwell Publishing Professional; 2008. p. 117-135.

Chacon JL, Rodrigues JN, Assayag Junior MS, Peloso C, Pedroso AC, Piantino FAJ. Epidemiological survey and molecular characterization of avian infectious

bronchitis virus in Brazil between 2003 and 2009. *Avian Pathology* 2011; 40(2): 153-162.

De Meloiv CB. Bronquite infecciosa das galinhas: conhecimentos atuais, cepas e vacinas no Brasil. *Ciência Rural* 2009; 39(8): 2559-2566.

De Wit JJ. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian pathology* 2000, 29(2): 71-93.

De Wit JJ, Cook JK, Van der Heijden HM. Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. *Avian Pathology* 2011; 40(3): 223-235.

Dixon MW. Biosecurity and the multiplication of crises in the Egyptian agri-food industry. *Geoforum* 2015; 61: 90-100.

Inoue AY, Castro AGM, Fisiopatologia do Sistema respiratorio. In: Berchieri JA, Silva EN, Di Fabio J, Sesti L, Zuanaze MAF. *Doença das aves*. 2ed. Campinas: Facta, 2009.

Jackwood MW. Review of infectious bronchitis virus around the world. *Avian diseases* 2012; 56(4): 634-641.

Jackwood MW. Immunopathology in infectious bronchitis and its role in the vaccination response. In Embrapa Suínos e Aves, editor. XIV Simposio Brasil Sul de Avicultura e V Brasil PoultryFair ; 2013. p. 81.

Jones RC. Viral respiratory diseases (ILT, aMPV infections, IB): are they ever under control?. *British poultry science* 2010; 51(1) : 1-11.

Kouakou AV, Kouakou V, Kouakou C, Godji P, Kouassi AL, Krou HA, Couacy-Hymann E. Prevalence of Newcastle disease virus and infectious bronchitis virus in avian influenza negative birds from live bird markets and backyard and commercial farms in Ivory-Coast. *Research in veterinary science* 2015;102: 83-88.

Ladman BS, Loupos AB, Gelb 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* 2006;35(2) : 127-133.

Liu XL, Su JL, Zhao JX, Zhang GZ. Complete genome sequence analysis of a predominant infectious bronchitis virus (IBV) strain in China. *Virus Genes* 2009; 38: 56 – 65.

MINISTERIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA PESCA E ABASTECIMENTO. Plano de contingencia para influenza Aviaria e Doença de Newcastle. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. Coordenação Geral de combate as doenças. Coordenadoria de Sanidade Avícola – Versão 1.4, Abril 2013. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/arquivos-das-publicacoes-de-saude-animal/plano-decontingencia-versao-1_4.pdf/view

MINISTERIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Mapa. Legislação. Disponível

em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=1152449158>. Acesso em: 05 junho. 2017.

MINISTERIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Exportação. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/exportacao> . Acesso em: 10 julho. 2017.

Pohjola LK, Ek-Kommonen SC, Tammiranta NE, Kaukonen ES, Rossow LM, Huovilainen TA. Emergence of avian infectious bronchitis in a non-vaccinating country. *Avian Pathology* 2014; 43(3) : 244-248.

Ribeira JG, Resende PT, FERNANDES T, SOUSA M. Percepção ambiental: Um estudo de caso na granja de galinhas poedeiras do Instituto Federal Goiano Campus Urutaí. *Revista Enciclopédia Biosfera* 2010;6(11): 01-11.

SAS Institute Inc. The SAS System, release 9.3 SAS Institute Inc., Cary: NC, 2016.

Wang Y, Jiang Z, Jin Z, Tan H, Xu B. Risk factors for infectious diseases in backyard poultry farms in the poyang lake area, china. *PLoS One* 2013; 8(6): e67366.

Yan SH Chen Y, Zhao J, Xu G, Zhao Y, Zhang G. Pathogenicity of a TW-Like strain of infectious bronchitis virus and evaluation of the protection induced against it by a QX-Like strain. *Frontiers in Microbiology* 2016; 7:1653.