

Evidência sorológica de Pneumovírus aviário em lotes de frangos de corte em municípios de Mato Grosso do Sul¹

Márcia F. Peres², Alfredo S. Carrijo^{3*}, Juliano A. Higa⁴ e Jacqueline M. de Oliveira⁵

ABSTRACT.- Peres M.F., Carrijo A.S., Higa A.H. & Oliveira J.M. 2006. [Serological evidence of avian pneumovirus infections in broiler flocks in counties of Mato Grosso do Sul.] Evidência sorológica de Pneumovírus aviário em lotes de frangos de corte em municípios de Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 26(4):254-258. Departamento de Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79070-900, Brazil. E-mail: acarrijo@nin.ufms.br

Avian pneumovirus (APV) is an important respiratory pathogen of hens and broilers. Although it was not clearly elucidated whether APV may cause economical losses in broiler flocks, it is known that APV infection can induce specific antibody production on these birds, and these serological reactions may provide some information about the epidemiological status of the APV infections. This work was carried out in search for antibodies to APV in broiler flocks in counties of Mato Grosso do Sul. Five hundred and thirty six serum samples from 54 broiler flocks at 42 and 51 days of age were tested with a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results showed that 330 samples (61.6%) were negative, 108 (20.1%) were suspect and 98 (18.3%) were considered positive for the presence to APV antibodies. Of all the flocks analyzed, 49 (90.7%) were considered either positive or suspect. The ELISA test demonstrated that there was a similar percentage of positive or suspect flocks among those flocks between 42 and 46 days of age, and among those between 47 and 51 days. No seasonal differences were observed, since the percentages of positive or suspect flocks either in summer or in winter months were similar. Most of the flocks were considered positive despite the type of broiler housing (conventional, environmental controlled or semi-controlled). It is concluded that there are strong evidences indicating circulation of APV in Mato Grosso do Sul. The percentages of positive flocks were similar regardless of the age groups of the birds examined, the type of broiler housing and the season when sampling was performed.

INDEX TERMS: Antibody, diagnosis, epidemiology, avian pneumovirus, PVA, swollen head syndrome.

RESUMO.- O Pneumovírus aviário (PVA) é um importante patógeno respiratório que acomete galinhas reprodutoras e frangos de corte. Apesar da importância econômica da pneumovirose não ter sido bem elucidada em frangos de corte, sabe-se que a infecção pode induzir a formação de anticorpos específicos nes-

tas aves, e tais reações sorológicas podem servir de base ao conhecimento da epidemiologia das infecções pelo PVA. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de anticorpos contra PVA em lotes de frangos de corte em municípios de Mato Grosso do Sul. Quinhentos e trinta e seis soros sanguíneos oriundos de 54 lotes de frangos de corte com idade entre 42 e 51 dias de idade foram testados com um ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) disponível comercialmente.

Os resultados demonstraram 330 (61,6%) amostras negativas, 108 (20,1%) suspeitas e 98 (18,3%) positivas para presença de anticorpos contra PVA. Do total de lotes analisados, 49 (90,7%) foram caracterizados como positivos ou suspeitos. O percentual de lotes positivos ou suspeitos foi semelhante entre lotes de frangos de corte com faixa etária entre 42 e 46 dias e entre 47 e 51 dias nos meses de verão e inverno. A maioria dos lotes de frangos de corte foi considerada como positiva independentemente do tipo de aviário de criação (convencional, semi-climatizado ou climatizado). Concluiu-se que há forte evidência

¹ Recebido em 7 de abril de 2006.

Aceito para publicação em 20 de junho de 2006.

² Pósgraduanda do Curso de Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

³ Depto Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UFMS, Av. Filinto Müller 2443, Cx.Postal 549, Campo Grande, MS 79070-900. *Autor para correspondência: acarrijo@nin.ufms.br

⁴ Graduando do Curso de Medicina Veterinária, FMVZ-UFMS. Bolsista CNPq/Fundect.

⁵ Laboratório de Diagnóstico de Doenças Animais e Análise de Alimentos, Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal, IAGRO, Av. Senador Filinto Müller 1146, Campo Grande, MS 79074-902.

indicando a circulação de PVA em lotes de frangos de corte nos municípios de Mato Grosso do Sul. Os percentuais de resultados positivos foram semelhantes nos lotes de frangos de corte em ambas as idades e épocas do ano analisadas. Independentemente do tipo de aviário de criação constatou-se a presença de frangos de corte soropositivos para o PVA.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Anticorpos, diagnóstico, epidemiologia, Pneumovírus aviário, PVA, síndrome da cabeça inchada.

INTRODUÇÃO

A contínua intensificação da produção no setor avícola propicia determinadas condições que favorecem a ocorrência e disseminação de algumas doenças infecciosas, principalmente aquelas associadas ao trato respiratório (Minharro et al. 2001). As doenças respiratórias que acometem as aves domésticas criadas comercialmente geram perdas econômicas pelo aumento da mortalidade, gastos com medicamentos, queda de postura, redução na qualidade e eclodibilidade dos ovos. Diferentes vírus e bactérias podem ser responsáveis por patologias no trato respiratório das aves, atuando isoladamente ou associadas a outros microrganismos (Glisson 1998, Minharro et al. 2001, Canal et al. 2003).

O Metapneumovírus aviário, também denominado de Pneumovírus aviário (PVA) vem adquirindo papel de destaque entre os patógenos respiratórios que afetam galinhas reprodutoras, poedeiras comerciais e frangos de corte nos últimos anos (Cook 2000). O PVA é conhecido como vírus da Rino-traqueíte Infecciosa dos Perus (RIP) e, está associado à Síndrome da Cabeça Inchada nas galinhas (SCI) (Arns & Hafez 1992).

O PVA pertence à família Paramyxoviridae, subfamília Pneumovirinae, gênero Metapneumovirus (Njenga et al. 2003). O PVA foi inicialmente isolado em perus na África do Sul (Buys & Dupreez 1980). Posteriormente, o vírus foi reportado na França (Giraud et al. 1986), Israel (Weisman et al. 1988), Alemanha (Hafez & Weiland 1990), Inglaterra (Jones et al. 1991), Brasil (Arns & Hafez 1995), Japão (Tanaka et al. 1995) e Estados Unidos (Cook et al. 1999).

Enquanto a doença causada por PVA em perus está bem definida, em galinhas a etiopatogenia da mesma ainda não foi bem elucidada. Sabe-se que o PVA pode infectar galinhas e induzir a formação de anticorpos específicos nas aves (Cook 2000). A transmissão de PVA ocorre de forma horizontal, não havendo evidências de transmissão vertical. A difusão do vírus pode ser facilitada pelo ar, pessoas, animais silvestres e veículos, sendo mais evidente nas aves criadas em galpões do que naquelas mantidas em gaiolas, permitindo sugerir que o contato físico seja um importante fator na transmissão da doença (Oliveira 2004).

Em aves adultas e frangos a SCI caracteriza-se por sinais respiratórios, seguidos por desorientação, torcicolo e edema facial (Arns & Hafez 1992). Frequentemente, os quadros respiratórios são agravados pela presença de infecções secundárias causadas principalmente por *Escherichia coli* (Zande et al. 2001).

Os títulos de anticorpos em pintos de um dia estão diretamente relacionados aos títulos de anticorpos maternos e persistem na circulação por volta de 15-20 dias, sendo detectáveis até

as quatro semanas de idade. Os anticorpos contra o PVA podem estar presentes em frangos de corte, matrizes pesadas e poedeiras comerciais com ou sem manifestação da SCI, ou seja, não existe relação entre a presença de anticorpos e a doença clínica, mas sim entre infecção e a produção de anticorpos (Cook et al. 1988, Picault et al. 1987).

Os testes de soroneutralização (SN) e imunoadsorção enzimática (ELISA) são os mais empregados para o diagnóstico sorológico de PVA. Os resultados obtidos pelas duas técnicas mostraram concordância, sendo que o teste ELISA apresenta maior sensibilidade do que o teste de soroneutralização (Picault et al. 1987, Cook et al. 1988). Os resultados com o teste ELISA indicam respostas sorológicas 11 dias após as aves serem contaminadas pelo PVA, apresentando sensibilidade de 98, 7% e especificidade de 99,5% (Heckert et al. 1994). Em um estudo comparativo dos testes de vírus-neutralização e ELISA, Alkahalaf et al. (2002) verificaram que ambos os testes são sensíveis e específicos para o diagnóstico de infecção por PVA em perus.

Os prejuízos econômicos em decorrência da SCI são relevantes, dependendo da variação da taxa de mortalidade, diminuição do ganho de peso e postura de ovos (Silva et al. 1994). No entanto, a importância desta enfermidade no Estado do Mato Grosso do Sul só poderá ser avaliada após a devida comprovação da presença de aves soropositivas e o isolamento do vírus a partir de aves doentes.

Até o momento não existem dados publicados a respeito da presença do PVA em Mato Grosso do Sul, apesar do vírus já ter sido isolado nas regiões Sul e Sudeste do Brasil e estudos epidemiológicos indicarem uma alta prevalência da infecção em frangos de corte (Arns et al. 1997). Este estudo teve por objetivo avaliar a ocorrência de anticorpos contra PVA em lotes de frangos de corte em municípios de Mato Grosso do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

O presente estudo foi realizado nos períodos de novembro de 2003 a fevereiro de 2004 (verão) e junho a agosto de 2004 (inverno), utilizando soro sanguíneo de frangos de corte em municípios de Mato Grosso do Sul (Quadro 1). Os lotes de frangos de corte avaliados foram criados em aviários climatizados, semiclimatizados ou convencionais e provenientes de matrizes vacinadas contra o PVA.

Imediatamente antes do abate industrial foram retirados aleatoriamente 10 frangos de corte por lote. Utilizando-se seringas e agulhas descartáveis foram colhidos 5mL de sangue através de punção da veia jugular, totalizando 54 amostras. Após a retração do coágulo,

Quadro 1. Lotes de frangos de corte avaliados de acordo com a faixa etária de abate em diferentes municípios de Mato Grosso do Sul

Município	No. ^a	42-46 dias	47-51 dias
Dois Irmãos do Buriti	7	1	6
Campo Grande	5	3	2
Jaraguari 3	2	1	
Maracaju 2	1	1	
Sidrolândia	33	17	16
Terenos 4	-	4	
Total 54	24	30	

^a Número de lotes.

o soro sanguíneo obtido foi transferido para tubo "Eppendorf", sendo congelado a -20°C para posterior análise laboratorial.

Análise laboratorial

A detecção de anticorpos contra PVA foi efetuada pelo teste de imunoadsorção enzimática (ELISA), utilizando-se *kit* comercial (ART Flocksreen®, Guildhay Ltd, Inglaterra). A execução e interpretação dos testes foram efetuadas de acordo com as recomendações do fabricante. De acordo com o fabricante a sensibilidade do teste utilizado foi estimada em 97,1% e a especificidade em 100%.

Os lotes foram classificados como positivo quando apresentaram pelo menos um soro sanguíneo positivo pelo teste ELISA e negativo quando todas as amostras apresentaram resultados negativos. Foram considerados como suspeitos os lotes de frangos de corte que apresentaram pelo menos um soro sanguíneo suspeito. As análises estatísticas dos dados obtidos de aves com idade de 42-46 e 47-51 dias e nos meses de verão e inverno foram realizadas utilizando-se o teste exato de Fisher (Curi 1998).

RESULTADOS

Do total de soros sanguíneos foram submetidas à análise laboratorial 536 amostras. Os resultados do teste ELISA demonstraram que 330 (61,6%) foram caracterizados como negativo, 108 (20,1%) como suspeito e 98 (18,3%) como positivo para a presença de anticorpos contra PVA.

No Quadro 2 estão apresentados os lotes de frangos de corte caracterizados como positivo ou suspeito para a presença de

Quadro 2. Lotes de frangos de corte classificados como positivo ou suspeito pelo teste de imunoadsorção enzimática (ELISA) para a detecção de anticorpos contra Pneumovírus aviário em duas faixas etárias de abate em municípios de Mato Grosso do Sul

Município	42-46 dias			47-51 dias		
	No. ^a	Positivo	Suspeito	No.	Positivo	Suspeito
Dois Irmãos do Buriti	1	-	1	6	6	-
Campo Grande	3	1	1	2	1	-
Jaraguari	2	1	-	1	1	-
Maracaju	1	1	-	1	-	1
Sidrolândia	17	16	-	16	12	3
Terenos	-	-	-	4	4	-
Total	24	19	2	30	24	4

^a Número de lotes

Quadro 3. Lotes de frangos de corte classificados como positivo ou suspeito pelo teste de imunoadsorção enzimática (ELISA) para detecção de anticorpos contra Pneumovírus aviário em duas estações do ano em municípios de Mato Grosso do Sul

Município	Verão			Inverno		
	No. ^a	Positivo	Suspeito	No.	Positivo	Suspeito
Dois Irmãos do Buriti	6	6	-	1	-	1
Campo Grande	4	1	1	1	1	-
Jaraguari	1	1	-	2	1	-
Maracaju	-	-	-	2	1	1
Sidrolândia	16	11	3	17	17	-
Terenos	2	2	-	2	2	-
Total	29	21	4	25	22	2

^a Número de lotes.

anticorpos contra PVA pelo teste ELISA nos diferentes municípios amostrados e em duas faixas etárias de abate. O percentual de lotes classificados como positivo ou suspeito foi de 90,7% do total. Nos diferentes municípios os resultados encontrados foram entre 100% para Dois Irmãos do Buriti, Maracaju e Terenos e 60% para Campo Grande.

O percentual de lotes caracterizados como positivo ou suspeito para a presença de anticorpos contra PVA entre as duas faixas etárias foi considerado estatisticamente semelhante pelo teste exato de Fisher, com um nível de significância de 5%. Para os lotes abatidos entre 42 e 46 dias e entre 47 e 51 dias de idade, os resultados positivos ou suspeitos foram de 87,5 e 93,3%, respectivamente (Quadro 2).

No Quadro 3 estão apresentados os lotes de frangos de corte classificados como positivo ou suspeito pelo teste ELISA para a presença de anticorpos contra PVA em duas estações do ano. Os percentuais de lotes caracterizados como positivo ou suspeito foram de 86,2% nos meses de verão e 96% nos meses de inverno, sendo considerados estatisticamente semelhantes pelo teste exato de Fisher no nível de 5% de significância.

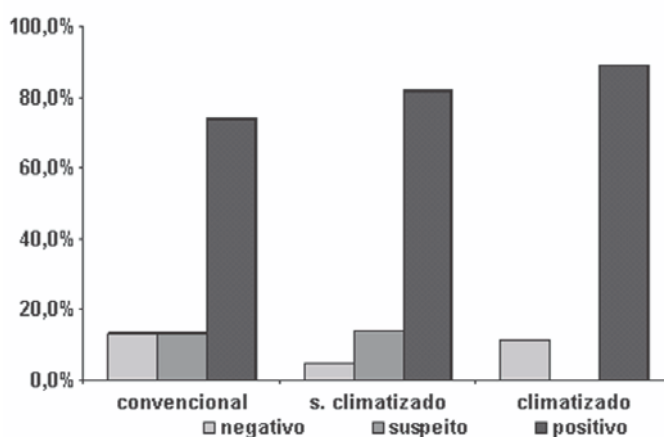


Fig. 1. Percentuais de lotes de frango de corte positivo, suspeito ou negativo para a detecção de anticorpos contra Pneumovírus aviário pelo teste de imunoadsorção enzimática (ELISA), criados em aviários do tipo convencional, semi-climatizado ou climatizado.

Dos 54 lotes de frangos de corte analisados para a presença de anticorpos contra PVA pelo teste ELISA, 23 foram criados em aviários convencionais, 22 em aviários semiclimatizados e 9 em aviários climatizados. Na Fig. 1 estão apresentados os percentuais de lotes de frango de corte negativo, suspeito e positivo para a detecção de anticorpos contra PVA pelo teste ELISA nos diferentes tipos de aviário.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A frequência de anticorpos contra PVA em soro sanguíneo de frangos de corte, matrizes pesadas e poedeiras comerciais, criados em Pernambuco, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, foi de 58 e 63% de positividade, utilizando-se as técnicas de soroneutralização e ELISA, respectivamente. No mesmo estudo verificou-se também que 30% dos lotes de frangos de corte avaliados foram positivos para a pre-

sença de anticorpos contra PVA e que a frequência de positividade naqueles lotes que historicamente desenvolveram síndrome da cabeça inchada foi de 100% (Arns & Hafez 1992).

Os dados obtidos no presente trabalho comprovaram a existência de infecção viral por PVA em lotes de frangos de corte em municípios de Mato Grosso do Sul, concordando com os dados obtidos por Arns & Hafez (1992) em outros Estados brasileiros e por Cook et al. (1988) na Inglaterra. Foram analisados 536 soros sanguíneos, sendo que 18,3% apresentaram resultado positivo no teste de ELISA. Considerando o número de lotes avaliados observou-se que 79,6% foram caracterizados como positivo, mostrando uma alta evidência de anticorpos contra PVA.

Em contrapartida, Boaro et al. (2004) e Toro et al. (1998) relataram ausência de anticorpos contra PVA em soro sanguíneo de frangos de corte na região do Planalto Médio do Estado do Rio Grande do Sul e na região central do Chile, respectivamente. No entanto, os frangos de corte chilenos apresentaram uma frequência de 11,1% de soros sanguíneos considerados como suspeitos, quando avaliados pelo teste ELISA. Ainda no estudo de Boaro et al. (2004), sugeriu-se que os resultados obtidos poderiam ser diferentes se a colheita das amostras fosse realizada em matrizes e/ou aves de postura com história clínica de doença respiratória. No presente estudo verificou-se que o percentual de lotes positivos ou suspeitos para a presença de anticorpos contra PVA foi semelhante entre os frangos de corte das duas faixas etárias estudadas (Quadro 2).

Considerando que infecção de frangos de corte por PVA ocorre geralmente após as quatro semanas de idade e que anticorpos circulantes podem ser detectados pelo teste ELISA após onze dias da infecção, pode-se sugerir que todas as aves amostradas no presente estudo possuíam idade suficiente para a detecção de anticorpos contra PVA após infecção, diferentemente do que Boaro et al. (2004) sugeriram. Além disso, os anticorpos detectados não são de origem materna, pois os mesmos persistem nas aves por até quatro semanas de idade (Cook et al. 1988, Heckert et al. 1994). Além disso, deve-se considerar que, a prevalência de anticorpos contra PVA em uma população pode ser influenciada por vários fatores, tais como, tamanho da amostra, características epidemiológicas e patogênicas do PVA e do tipo de ensaio utilizado.

A maioria dos surtos de viroses relacionada com os vírus respiratórios representantes da subfamília Pneumovirinae (Metapneumovírus humano, vírus respiratório sincicial humano e bovino) acontece em meses com altos índices pluviométricos ou em meses com temperaturas baixas. Porém, isso não foi observado em surtos de PVA na Europa (Easton et al. 2004). Em Minnesota, Estados Unidos, foi observado que os surtos de rinotraqueíte infecciosa dos perus causada pelo Subgrupo C de PVA ocorreram mais frequentemente entre os meses de abril/maio e outubro/dezembro (Shin et al. 2002) e que houve uma maior incidência de aves soropositivas nos meses de outono e primavera (Goyal et al. 2002).

Diferentemente do que ocorre nos Estados Unidos, Dani et al. (1999) verificaram que os isolados brasileiros de PVA pertenciam apenas ao subgrupo A. Entretanto, há uma carência de informações quanto à prevalência de surtos e a incidência de infecção causada por PVA em frangos de corte e galinhas nas

diferentes estações do ano no Brasil. Neste estudo verificou-se que os percentuais de lotes positivos ou suspeitos para a presença de anticorpos contra PVA em soro sanguíneo de frangos de corte foram semelhantes nos meses de verão e inverno (Quadro 3).

Levando-se em consideração o tipo de criação avícola verificou-se que houve infecção por PVA nos lotes de frangos de corte avaliados e que a maioria dos lotes foi classificada como positivos, sendo que os percentuais de positividade foram de 73,9%, 81,8% e 88,9% nos aviários do tipo convencional, semiclimatizado e climatizado, respectivamente (Fig.1).

Anticorpos contra PVA podem ser encontrados em soro sanguíneo de frangos de corte, com ou sem sinais clínicos de SCI. Portanto, a importância da atividade do PVA em lotes de frangos de corte em Mato Grosso do Sul seria mais bem compreendida pela comparação dos dados de sorologia com o histórico clínico dos lotes (como mortalidade, ocorrência de enfermidades e ganho de peso), índices de condenação em abatedouro e pela confirmação da infecção pelo isolamento do vírus em material colhido de aves doentes.

A avicultura industrial em Mato Grosso do Sul não se restringe apenas aos municípios amostrados. As microrregiões de Dourados, Campo Grande e Iguatemi, em ordem decrescente, concentram a maior parte do plantel avícola do Estado (88,7%), o que aponta para a necessidade de realização de estudos de prevalência em outras microrregiões de MS (Mato Grosso do Sul 2003).

Este estudo possibilitou evidenciar que houve infecção por PVA em lotes de frangos de corte nos municípios avaliados, podendo-se considerar que este foi o primeiro relato de evidência sorológica de infecção pelo PVA em Mato Grosso do Sul. Entretanto, não foi possível verificar a prevalência da infecção em função da amostragem insuficiente e do tempo prolongado para obtenção das amostras (novembro/2003 a agosto/2004).

A alta taxa de soropositividade encontrada em amostras obtidas de lotes de frangos no presente estudo, indica que o PVA deve ser arrolado como uma possível causa de ocorrência de doença respiratória nestas localidades. Assim, é recomendável que esforços no sentido de diagnosticar a presença do PVA por meio do isolamento viral ou detecção de fragmentos do genoma viral (Dani et al. 1999, D'Arce et al. 2005) devem ser conduzidos quando da ocorrência de surtos de enfermidade respiratória em lotes comerciais alojados em Mato Grosso do Sul.

Concluiu-se que houve evidência de infecção por PVA em lotes de frangos de corte nos municípios de Mato Grosso do Sul analisados. Os percentuais de resultados positivos foram semelhantes nas duas faixas etárias e épocas do ano analisadas. Independentemente do tipo de aviário de criação constatou-se a presença de aves soropositivas para o PVA.

Agradecimentos.- Auxílio financeiro da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (Fundect, Proc. 41.100.043/2005).

REFERÊNCIAS

Alkhalaf A.N., Halvorson D.A. & Saif Y.M. 2002. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays and virus neutralization test for detection of antibodies to avian pneumovirus. *Avian Dis.* 46:700-703.

- Arns C.W. & Hafez H.M. 1992. Swollen head syndrome in poultry flocks in Brazil. Proc. 41st Western Poultry Diseases Conference, Sacramento, California, p.81-83.
- Arns C.W. & Hafez H.M. 1995. Isolation and identification of avian pneumovirus from broiler breeder flocks in Brazil. Proc. 44th Western Poultry Diseases Conference, Sacramento, California, p.124-125.
- Arns C.W., Castro T.A.M.G., Parreira V.R. & Coswig L.T. 1997. Situation of avian pneumovirus in Brazil. Virus Rev. Res. 2(1):101-102.
- Boaro L., Kreutz L.C., Poletto R. & Uonfruhau M. 2004. Ausência de anticorpos contra o vírus da Síndrome da Cabeça Inchada em frangos de corte no Planalto Médio do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Rural, Santa Maria, 34(1):285-287.
- Buyts S.B. & Dupreez J.H. 1980. A preliminary report on the isolation of a virus causing sinusitis in turkeys in South Africa and attempts to attenuate the virus. Turkey 28:36-46.
- Canal C.W., Rocha, S.L.S., Le J.A., Fallavena L.C.B., Oliveira S.D. & Beltr N. 2003. Detecção de *Ornithobacterium rhinotracheale* por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). Ciência Rural, Santa Maria, 33(2):377-379.
- Cook J.K.A. 2000. Avian Pneumovirus infections of turkeys and chickens. Vet. J. 160:118-125.
- Cook J.K.A., Dolby C.A., Southee D.J. & Mockett A.P.A. 1988. Demonstration of antibodies to turkey rhinotracheitis virus in serum from commercial reared flocks of chickens. Avian Pathol. 17:403-410.
- Cook J.K.A., Huggies, M.B., Orbell S.J. & Senne D.A. 1999. Preliminary antigenic characterization of an avian pneumovirus isolated from commercial turkeys in Colorado, USA. Avian Pathol. 28:607-617.
- Curi R.P. 1998. Metodologia e Análise da Pesquisa em Ciências Biológicas. Tipomic, Botucatu. 263p.
- Dani M.A.C., Arns C.W. & Durigon E.L. 1999. Molecular characterization of Brazilian avian pneumovirus isolates using reverse transcription polymerase chain reaction, restriction endonuclease analysis and sequencing of a G gene fragment. Avian Pathol. 23:733-742.
- D'Arce R.C., Coswig L.T., Almeida L.S., Trevisol I.M., Monteiro M.C., Rossini L.L., Di Fabio J., Hafez H.M. & Arns C.W. 2005. Subtyping of new Brazilian avian metapneumovirus isolates from chickens and turkeys by reverse transcriptase-nested-polymerase chain reaction. Avian Pathol. 34(2):133-136.
- Easton A.J., Domachowski J.B. & Rosenberg H.F. 2004. Animal pneumovirus: molecular genetics and pathogenesis. Clin. Microbiol. Rev. 4:390-412.
- Giraud P., Bennejean G., Guittet M. & Toquin D. 1986. Turkey rhinotracheitis in France: preliminary investigation on a ciliostatic virus. Vet. Rec. 119:606-607.
- Glisson J.R. 1998. Bacterial respiratory diseases of poultry. Poultry Sci. 77(8):1139-1142.
- Goyal S.M., Lauer D., Friendshuh K. & Halvorson D. 2002. Seroprevalence of avian pneumovirus in Minnesota turkeys. Avian Dis. 47(3):700-706.
- Hafez H.M. & Weiland F. 1990. Preliminary studies of a virus associated with turkey rhinotracheitis in West Germany. Tierärztl. Umschau 45:103-111.
- Heckert R., Myers D.J., Afshar A. & Riva J. 1994. Development and evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to avian pneumovirus. Avian Dis. 38:694-700.
- Jones R.C., Naylor J.C., Bradbury J.M., Savage C.E., Worthington K. & Willians R.A. 1991. Isolation of a turkey rhinotracheitis-like virus from broiler breeder chickens in England. Vet. Rec. 129:509-510.
- Mato Grosso do Sul 2003. Diagnóstico sócio-econômico de Mato Grosso do Sul. Secretaria de Estado de Planejamento e de Ciência e Tecnologia, Campo Grande. Disponível em: <http://www.sefaz.ms.gov.br/cadeias/arquivos/01_avicultura.pdf>. Acesso em: 10/11/2005.
- Minharro S., Linhares, G.F.C., Andrade M.A. Rocha P.T. & Santana A.T. 2001. Envolvimento de *Escherichia coli*, de *Mycoplasma gallisepticum* e de *Mycoplasma synoviae* em lesões de sacos aéreos em frangos abatidos no Estado de Goiás. Ciênc. Anim. Bras. 2:111-117.
- Njenga M.K., Lwamba H.M. & Seal B.S. 2003. Metapneumoviruses in birds and humans. Virus Res. 91:163-169.
- Oliveira C. 2004. Controle da pneumovirose aviária via vacinas: a experiência brasileira. Disponível em: <http://www.avisite.com.Br/cet/1/23/index.shtml>> Acesso em: 23/03/2004.
- Picault J.P., Giraud P., Guittet M., Bennejean G., Lamande J., Toquin D. & Gueguen C. 1987. Isolation of TRTV like virus from chickens with swollen head syndrome. Vet. Rec. 121:135.
- Shin H.J., Cameron K.T., Jacobs J.A., Turpin E.A., Halvorson D.A., Goyal S.M., Nagajara K.V., Kumar M.C., Lauer D.C., Seal B.S. & Njenga M.K. 2002. Molecular epidemiology of subgroup C avian pneumoviruses isolated in USA and comparison with subgroup A and B. J. Clin. Microbiol. 40:1687-1693.
- Silva E.N., Arns C.W. & Silva J.M.L. 1994. Observações sobre a síndrome da cabeça inchada em matrizes pesadas no Brasil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 46(3):210-222.
- Tanaka M., Takuma H., Kokumai N., Oishi E., Obi T., Hiramatsu K. & Shimizu Y. 1995. Turkey rhinotracheitis virus isolated from broiler chickens with swollen head syndrome in Japan. J. Vet. Med. Sci. 57:939-941.
- Toro H., Hidalgo M., Ibanez M. & Hafez M. 1998. Serologic evidence of pneumovirus in Chile. Avian Dis. 42:815-817.
- Weisman Y., Strengel C., Blumenkranz R. & Segal Y. 1988. Turkey rhinotracheitis in turkey flocks in Israel: virus isolation and serological response. Proc. 37th Western Poultry Diseases Conference, Davis, California, p.67-69.
- Zande S.V., Nauwynck H. & Pensaert M. 2001. The clinical, pathological and microbiological outcome of *Escherichia coli* O2:K1 infectious in avian pneumovirus infected turkeys. Vet. Microbiol. 81:353-365.