

ARTIGO DE REVISÃO

BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS

L.J. Pena, B.M. dos Santos, R.P. Roberti, S.Y. Marin

Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Veterinária, Av. P.H. Rolfs s/nº, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: bmsantos@ufv.br

RESUMO

A bronquite infecciosa das galinhas (BIG) é uma doença respiratória altamente contagiosa causada por um *Coronavirus*, o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG). Embora o VBIG seja um patógeno primário do trato respiratório, ele é também uma causa comum de redução da produção e qualidade dos ovos em galinhas. Certos tipos de VBIG causam lesões renais, com significativa mortalidade. Há também mortalidade por conseqüências respiratórias. A doença possui grande importância econômica devida às perdas na produção, sendo estas maiores que as perdas por mortalidade. A ocorrência de múltiplos sorotipos e as características mutantes de seu agente etiológico tem complicado e aumentado os custos de produção e dificultado sua prevenção através da imunização. Recentemente, uma variante do VBIG tem sido descrita associado com a miopatia dos músculos peitorais em muitas partes do mundo, inclusive no Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Vírus da bronquite infecciosa das galinhas, miopatia peitoral, variação antigênica.

ABSTRACT

AVIAN INFECTIOUS BRONCHITIS. Avian infectious bronchitis (IB) is a highly contagious respiratory disease of chickens caused by a *Coronavirus*, infectious bronchitis virus (IBV). Although IBV is primarily a respiratory tract pathogen, it is also a common cause of reduced egg production and egg quality in laying hens, and certain strains of IBV cause kidney lesions with significant mortality. Mortality by tracheal blockage also occurs. The disease has high economic importance due the loss of production, which is more important than the loss by mortality. The occurrence of multiple serotypes and mutants of the IBV have complicated and increased the production costs and have impaired its prevention through immunization. Recently, a variant IBV has been reported associated with pectoral muscle myopathy in many parts of world including Brazil.

Key words: Avian infectious bronchitis virus, pectoral muscle myopathy, antigenic variation.

INTRODUÇÃO

A bronquite infecciosa das galinhas (BIG) é uma doença aguda, altamente contagiosa, causada por um *Coronavirus* que acomete a espécie *Gallus gallus domesticus*, infectando células dos aparelhos respiratórios e genito-urinário das galinhas (KING & CAVANAGH, 1991; SANTOS *et al.*, 2005).

A BIG foi descrita pela primeira vez por SHALK & HAWN (1931) na Cidade Dakota do Norte, EUA, espalhando-se rapidamente por todo o país (COOK, 1997). Nos anos 40 foi descrito o impacto da BIG na produção e qualidade dos ovos e na década de 60 a síndrome nefrite-nefroze foi relatada na Austrália (KING & CAVANAGH, 1991).

No Brasil, a BIG foi diagnosticada pela primeira vez no ano de 1957 pelo Professor Hipólito no Estado de Minas Gerais (HIPÓLITO *et al.*, 1979).

A importância econômica dessa doença decorre da diminuição na produção e qualidade interna e

externa dos ovos, diminuição da eclodibilidade, diminuição da eficiência alimentar e do ganho de peso e aumento da mortalidade e da condenação de carcaças ao abate, além dos gastos com medicamentos para debelar infecções bacterianas secundárias (HIPÓLITO *et al.*, 1979; ROCHA, 2000; RESENDE, 2003).

ETIOLOGIA

O vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG) pertence à ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae* e está classificado no gênero *Coronavirus*. A família *Coronaviridae* possui os gêneros *Coronavirus* e *Torovirus*, sendo que o VBIG é o protótipo dessa família. O gênero *Coronavirus* é dividido em quatro grupos com base em propriedades antigênicas e sorológicas, que foram posteriormente sustentadas pelo sequenciamento gênico. As proteínas dos vírions possuem menos de 40% de identidade de aminoácidos entre espécies de diferentes grupos. Os grupos 1, 2 e

4 incluem vários vírus que infectam mamíferos, sendo que o grupo 3 é formado, até o presente momento, pelo coronavírus da bronquite infecciosa (VBI), pelo coronavírus do peru e pelo coronavírus do faisão (MURPHY *et al.*, 1999; CAVANAGH, 2005).

Quanto à morfologia, o VBI é pleomórfico, apesar da predominância de partículas esféricas, com aproximadamente 120 nm de diâmetro (RESENDE, 2003). O vírion apresenta envelope lipídico, o que lhe confere alta sensibilidade às condições ambientais e aos desinfetantes comumente utilizados na avicultura industrial. Esse vírus possui projeções superficiais (espículas), as quais, sob microscopia eletrônica, fazem-no assemelhar-se a uma coroa solar, derivando, desse fato, o nome do gênero (HIPÓLITO *et al.*, 1979; ROCHA, 2000; RESENDE, 2003).

O VBI possui simetria helicoidal e genoma formado por RNA fita simples poliadenilado, não segmentado, de polaridade positiva e com aproximadamente 27,6 Kb. O vírus, após a adsorção e penetração na célula alvo, é multiplicado no citoplasma e a formação de partículas virais ocorre no Retículo Endoplasmático Rugoso e no Complexo de Golgi. Os vírions são liberados da célula infectada por exocitose, não promovendo, desta forma, a lise celular (MURPHY *et al.*, 1999; RESENDE, 2003).

O genoma viral é envolvido basicamente por 3 proteínas: A nucleoproteína (N), uma proteína fosforilada do nucleocapsídeo interno e externamente, pelas glicoproteínas da matriz (M) e da espícula (S), sendo essa última composta por duas subunidades, S₁ e S₂. Existe uma quarta proteína, S_M, que é associada ao envelope viral, mas pouco se conhece sobre ela (MARTINS, 1992; MURPHY *et al.*, 1999; ROCHA, 2000; RESENDE, 2003).

A proteína do N, com peso molecular de 52 KDa, está localizada na parte interna do vírion, estando intimamente associada ao RNA viral, sendo relativamente estável. Os anticorpos dirigidos contra essa proteína são os primeiros a serem detectados após a infecção, entretanto, não estão associados com a proteção (CAVANAGH *et al.*, 1992). Apesar disso, anticorpos monoclonais dirigidos contra a nucleoproteína N foram descritos como capazes de neutralização (MARTINS, 1992). Alguma participação da proteína N na imunidade pela infecção pelo VBI é sugerida pelos resultados de BOOTS *et al.*, (1992), que reportaram que a imunidade induzida pelo vírus inativado foi incrementada com a imunização prévia com essa fosfoproteína, embora a imunização isoladamente com as proteínas N ou M não resulta em imunidade protetora (IGNJATOVIC & GALLI, 1994).

Os anticorpos monoclonais anti-N podem ser usados em teste de ELISA para captura de antígeno de quase todos os sorotipos de VBI, indicando grande homologia de N nos diferentes isolados (MARTINS,

1992). Além disso, a região do gene do VBI que codifica para a proteína N também apresenta alto grau de conservação e pode ser usada universalmente como região alvo para detecção do genoma viral através da técnica de RT-PCR (FALCONE *et al.*, 1997).

A glicoproteína M interage com o nucleocapsídeo interno da partícula viral e possui cerca de 225 aminoácidos, sendo que desses, somente 10% estão exteriorizados no envelope viral. Essa glicoproteína apresenta variação de peso molecular (26 a 34 KDa) devido a diferentes níveis de glicosilação que a mesma sofre no Complexo de Golgi (KING & CAVANAGH, 1991; MARTINS, 1992; MURPHY *et al.*, 1999; ROCHA, 2000). Apesar de carecer de importância como determinante antigênico para a identificação de sorotipos ou geração de resposta imune protetora, o glicoproteína M adquiriu importância em estudos que evidenciaram processo de recombinação natural entre diferentes sorotipos de VBI, corroborando as preocupações recomendadas pelos órgãos governamentais ao se introduzir vacinas vivas atenuadas de sorotipos variantes em uma determinada região (MARTINS, 1992; RESENDE, 2003).

A glicoproteína S, que contém 1.160 aminoácidos, possui duas a três cópias de cada um dos glicopeptídeos em que ela pode ser clivada, originando as subunidades S₁ e S₂, que são constituídas aproximadamente por 535 e 625 aminoácidos, respectivamente (RESENDE, 2003). Os glicopolipeptídeos da proteína S estão distribuídos na superfície da partícula viral, bem espaçados entre si. A estrutura tridimensional do glicopolipeptídeo S₂ tem o formato de clava e penetra no envoltório lipídico da membrana e desempenha uma função de suporte para S₁ por apresentar uma estrutura mais rígida do que este, o qual possui formato globular (MARTINS, 1992; ROCHA, 2000; RESENDE, 2003). Salienta-se que o glicopolipeptídeo S₁ é responsável pela infectividade viral e possui determinantes antigênicos que induzem a formação de anticorpos neutralizantes. A variação na sua composição aminoacídica é a principal estratégia do VBI para escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro (CAVANAGH *et al.*, 1992; CAVANAGH *et al.*, 1997; KEELER *et al.*, 1998; COOK *et al.*, 1999; MURPHY *et al.*, 1999). Essa proteína possui um papel crucial em dois processos que são muito relevantes para a indústria avícola. Primeiramente, a proteína é a principal indutora da resposta imune protetora contra a infecção pelo VBI, sendo por isto, de fundamental importância na imunoprofilaxia para a VBI e, em segundo lugar, ela é a base dos testes de diagnósticos que têm sido utilizados para identificar e caracterizar as amostras virais (COOK *et al.*, 1996; NAQI, 1996; CARDOZO, 1998; KEELER *et al.*, 1998; COOK *et al.*, 1999; ROCHA, 2000; RESENDE, 2003). No que se refere a glicoproteína S₂, essa apresenta menor variação antigênica (3 a 7 vezes

menos que a S_1), entretanto, ela possui uma importante função na manutenção da estrutura espacial de S_1 e qualquer variabilidade na S_2 pode afetar a configuração espacial de S_1 , o que pode dificultar o reconhecimento da mesma por anticorpos específicos (CALLISSON *et al.*, 1999; RESENDE, 2003). Através do seqüenciamento do glicopolipeptídeo S, pode-se constatar que a variabilidade entre os isolados de VBIG concentram-se em duas regiões da subunidade S_1 , chamadas de regiões hipervariáveis (CAVANAGH *et al.*, 1992).

A variabilidade genética desenvolvida pelo VBIG, que possui um extenso genoma, ocorre através de mutação e recombinação homóloga. Essa variabilidade confere ao agente uma vantagem evolutiva considerável uma vez que o vírus mantém a sua estabilidade genética e gera produtos com grande diversidade antigênica superficial, que o permite contornar as defesas do hospedeiro (MURPHY *et al.*, 1999; RESENDE, 2003). A pressão seletiva induzida pelo "status imunitário" de uma região pode contribuir significativamente para o surgimento de amostras variantes (MARTINS, 1992) e, pequenas variações nas regiões hipervariáveis podem resultar em diferenças detectáveis em teste de vírus-neutralização (VN). Algumas amostras que foram consideradas sorotipos diferentes nesses testes, mostraram diferença de apenas 2% a 3% na seqüência de aminoácidos da subunidade S_1 (CAVANAGH *et al.*, 1992).

Devido a esse fato, alguns trabalhos sugerem a possibilidade de uma nova classificação do vírus, não em sorotipos, mas em protectotipos. Esses seriam amostras de vírus capazes de, através do teste de imunidade cruzada em anéis de traquéia ou em aves livres de patógenos específicos (SPF), conferir proteção contra sorotipos do mesmo grupo ou de grupos sorologicamente distintos, uma vez que a maior parte da estrutura viral permanece inalterada, acarretando reações cruzadas entre os diferentes sorotipos (DI FÁBIO, 1993; DI FÁBIO & ROSSINI, 2000; DI FÁBIO, 2004).

A sorotipificação do vírus se faz por meio de soroneutralização (SN) sendo esta uma prova definitiva para essa classificação, podendo ser realizada em ovos embrionados de galinhas livres de patógenos específicos, em cultivos primários de rins e em cultivos de anéis de traquéia (COOK *et al.*, 1976; EPIPHANIO, 1998).

O primeiro sorotipo de VBIG a ser descrito foi o tipo *Massachusetts*. Por outro lado, JUNGHER *et al.* (1956) propuseram o sorotipo *Connecticut* como o primeiro VBIG diferente do sorotipo *Massachusetts*. Esses autores verificaram que não havia proteção cruzada entre os dois sorotipos. Subseqüentemente, outros sorotipos foram relatados em vários países em todo o mundo (COOK, 1997; ROCHA, 2000). Segundo VILLEGAS (1997), a variabilidade de sorotipos de VBIG em diferentes países é um dos fatores mais importantes no controle da BIG. Embora cada área geográfica possa ter os seus

próprios sorotipos, mais de um sorotipo pode ser predominante em cada área ao mesmo tempo, enquanto que o sorotipo predominante em cada área, em particular, muda com o tempo. Novos sorotipos de VBIG continuam a serem descritos em todas as partes do mundo, inclusive no Brasil. Entretanto, o sorotipo *Massachusetts* continua a ser importante e é o tipo predominante em muitas áreas (COOK, 1997).

Várias amostras de VBIG isoladas em plantéis vacinados no Estado de São Paulo, durante 1987 a 1991, apresentaram pouca relação sorológica com o sorotipo *Massachusetts* (ROCHA, 2000). Aproximadamente, no mesmo período, WENTZ (1992) isolou, de algumas regiões brasileiras com intensa atividade avícola, quatorze amostras de VBIG, que foram submetidas a testes laboratoriais revelando algumas diferenças antigênicas entre elas e algumas amostras vacinais. RESENDE (2003), avaliando 15 isolados de VBIG oriundos de surto de BIG na avicultura industrial de Minas Gerais, entre 1972 a 1989 através da técnica de RT-PCR/RFLP (polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição), classificou os isolados em 3 grupos, sendo que nove desses isolados foram agrupados no genótipo *Massachusetts* e os outros 2 genótipos agruparam seis isolados considerados variantes por esse estudo. Nesse trabalho de genotipificação, nenhum dos 15 isolados foi classificado no genótipo/sorotipo *Connecticut* ou *Arkansas*.

PATOGENIA E EPIDEMIOLOGIA

O VBIG, após um período de incubação de 18 a 36h, é replicado com altos títulos primeiramente nas células epiteliais ciliadas da mucosa do aparelho respiratório, seguindo uma fase de viremia por 1 a 2 dias após a infecção, o que possibilita a distribuição viral para os diversos tecidos para os quais o agente possui tropismo. Eventualmente, o vírus causa os principais danos no aparelho genito-urinário. O trato intestinal é outro possível sítio da infecção primária. A infecção primária no trato respiratório superior pode resultar em doença menos severa do que quando a infecção primária ocorre no trato respiratório inferior (KING & CAVANAGH, 1991; MURPHY *et al.*, 1999; ROCHA, 2000).

Os isolados de VBIG, independente do tecido de origem, infectam células ciliadas da mucosa do aparelho respiratório das galinhas e produzem lesões características na traquéia, que é o órgão de eleição para sua multiplicação (KING & CAVANAGH, 1991), sendo por isso, considerada doença primária do aparelho respiratório (RESENDE, 2003). Apesar disso, alguns dos isolados apresentam tropismo exacerbado para os rins, oviduto e, ou, aparelho digestório (COOK *et al.*, 2001; DHINAKAR RAJ & JONES, 1996; RESENDE, 2003). As infecções respiratórias podem ser complicadas

pela presença de *Mycoplasma gallisepticum*, *M. sinoviae* e *Escherichia coli* (KING & CAVANAGH, 1991; ROCHA, 2000), resultando em pericardite, aerossaculite, perihepatite e peritonite. Lesões nas células do oviduto acarretam redução da produção e comprometimento da qualidade interna e externa dos ovos (SANTOS *et al.*, 2005). Alguns sorotipos, denominados sorotipos nefropatogênicos, determinam lesões renais com vários graus de comprometimento. Esses sorotipos estão relacionados na etiologia da nefrite-nefrose aviária (KING & CAVANAGH, 1991; ROCHA, 2000; RESENDE, 2003). EL-HOUADFI *et al.* (1986) isolaram uma amostra variante enterotrópica que foi capaz de causar lesões em algumas partes do intestino. Além disso, lesões na traquéia, rins e oviduto das galinhas infectadas também foram observadas (ROCHA, 2000).

Em 1991, surtos de BIG apresentando características incomuns foram descritos na Grã-Bretanha em lotes vacinados. Estes surtos foram associadas com um novo tipo de VBIG, chamado de 4/91 ou 793B (COOK *et al.*, 1996). A mortalidade e miopatia bilateral observadas em matrizes foram associadas a essa variante. Em lotes de frangos de corte vacinados com a amostra H 120 do sorotipo *Massachusetts*, a doença se manifestou com sinais respiratórios, miopatia peitoral e mortalidade tardia, ao redor da sexta semana de idade (COOK *et al.*, 1996). A miopatia bilateral dos músculos peitorais (superficial e profundo) vista em frangos de corte, muitas vezes apresentando edema gelatinoso e hemorragias, tem sido associada com essa variante do VBIG (DHINAKAR RAJ & JONES, 1996; RESENDE, 2003).

Os isolados de VBIG relacionados ao 4/91 apresentam uma ampla distribuição tecidual, que incluem os trato respiratório, digestório e urinário. DHINAKAR RAJ & JONES (1996) estudando a imunopatogenia da infecção por essa variante isolaram o vírus após infecção experimental nos seguintes órgãos: traquéia, rins, pulmões, bolsa de Fabrício, glândulas de Harder, tonsilas cecais e trato gastrointestinal. No entanto, o vírus não foi isolado do músculo peitoral. Nesse trabalho, os autores não concluíram se o vírus se multiplica na porção oral do trato gastrointestinal, em contraste com a região do intestino aboral como íleo e reto, em que a multiplicação viral nesses sítios pode ser evidenciada pelas lesões na mucosa dos respectivos órgãos. Também, esses mesmos pesquisadores associaram a diarreia observada nas aves infectadas à multiplicação viral no trato intestinal. Constatou-se, ainda, uma rápida eliminação do vírus no trato respiratório e mais extensa, porém temporalmente limitada, replicação do vírus no intestino.

A miopatia peitoral com palidez e edema, observada no exame anatomopatológico das aves afetadas pela variante mencionada, foi reproduzida experimentalmente em frangos de seis semanas de idade por

DHINAKAR RAJ & JONES (1996), mas não em pintainhos de 1 dia. Apesar disto, não foi verificada alteração significativa dos níveis de Creatina Quinase (CK) no soro das aves e nem lesões ao exame histopatológico. Diante disso, esses autores especularam que a miopatia poderia ser o resultado da deposição de imunocomplexos na parede dos capilares que irrigam o músculo peitoral. Porém, a patogenia desse tipo de lesão ainda não foi confirmada. Estudos da sequência aminoácídica da proteína S₁ têm demonstrado que os membros do subgrupo 4/91 do VBIG diferem de outros isolados europeus e americanos entre 21% a 48% (DHINAKAR RAJ & JONES, 1996).

Como essa nova forma de apresentação da doença vem também ocorrendo no Brasil, BRENTANO *et al.* (2005) estudaram 3 lotes de matrizes pesadas com suspeita de BIG atípica, os quais estavam apresentando mortalidade aumentada, apatia, dispnéia, queda da produção e qualidade dos ovos, lesões renais e miopatia peitoral. A partir de materiais obtidos dessas aves, os autores conseguiram isolar o VBIG, utilizando ovos embrionados SPF. Além disso, eles detectaram o genoma viral através da técnica de transcriptase reversa, seguida pela reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR). Esses pesquisadores conseguiram reproduzir a doença respiratória e renal *in vivo*. Contudo, não se obteve sucesso na reprodução da miopatia peitoral em aves SPF, indicando a necessidade de mais estudos para elucidar a patogenia dessa apresentação atípica da BIG.

Em relação à morbidade e mortalidade na BIG, todas as aves de um plantel podem ser acometidas, mas a mortalidade é variável, dependendo da estirpe viral, idade, estado imunológico do lote, fatores ambientais estressantes e infecções bacterianas secundárias. Em aves jovens, a doença se manifesta com maior severidade. Com o aumento na idade, diminui a taxa de mortalidade e aumenta a ocorrência das lesões renais e do oviduto. O isolado australiano nefropatogênico produz maior mortalidade em pintos que os isolados americanos (HIPÓLITO *et al.*, 1979; KING & CAVANAGH, 1991; RESENDE, 2003).

Após a infecção, o vírus pode ser excretado via muco, secreções conjuntiva e, ou, nasal por um período superior a quatro semanas. As fezes também se caracterizam como uma via de disseminação do agente. Porém, por essa via, o VBIG pode ser eliminado por um período significativamente maior. O vírus já foi isolado de fezes 20 semanas após a infecção (KING & CAVANAGH, 1991; DIFÁBIO, 1992). O VBIG pode persistir por longos períodos no trato intestinal, possivelmente nas tonsilas cecais, sem causar lesões e essa permanência é um fator importante na epidemiologia das infecções pelo VBIG, especialmente porque tem sido demonstrado experimentalmente, em pintos de 1 dia de idade, que a reexcreção pode ocorrer intermitentemente a partir do início de postura (COOK, 1990).

A transmissão de aves infectadas às aves susceptíveis pode se dar por contágio direto ou indireto. Em geral, os portadores podem transmitir o vírus por até dois meses após a infecção natural, permanecendo as aves recuperadas susceptíveis à infecção por outro sorotipo (KING & CAVANAGH, 1991; DI FÁBIO, 1993; ROSSINI & MONTEIRO, 2004).

IMUNIDADE NA BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS

A infecção pelo VBIG induz a produção de IgM, IgG e IgA. Em reprodutoras imunizadas, o óvulo começa a adquirir IgG a partir da circulação sanguínea em torno de cinco dias antes da postura do ovo. Ao passar pelo oviduto, o óvulo, além do albúmen, adquire IgM e IgA, que são encontradas no líquido amniótico até metade do período embrionário. Durante o terço final da incubação, a IgG alcança a corrente sanguínea e pode inibir a replicação viral neste período. O pintinho recém eclodido possui níveis circulantes de IgG próximos aos encontrados nas progenitoras. Os anticorpos da classe IgG são metabolizados rapidamente com uma meia-vida média de aproximadamente três dias e podem persistir por 3-4 semanas, porém só conferem proteção na primeira semana (HIPÓLITO *et al.*, 1979; KING & CAVANAGH, 1991; COOK *et al.*, 1992; MURPHY *et al.*, 1999). Os anticorpos maternos reduzem a severidade da doença mas não previnem a infecção. Portanto, a imunidade passiva promove proteção contra desafio na primeira semana mas não na segunda e pode reduzir tanto a severidade da reação vacinal quanto à eficácia da vacinação, se a vacina usada nos pintos for da mesma amostra que a usada nos reprodutores (KING & CAVANAGH, 1991). Deve-se ressaltar que em aves com altos níveis de anticorpos maternos, a reação vacinal, em geral, é menor do que em aves com baixos níveis de anticorpos (VILLEGAS, 1997). Os anticorpos circulantes estão associados à proteção contra a viremia e conseqüente envolvimento de órgãos extra-respiratórios, como oviduto, ovário e rins, não impedindo, entretanto, infecção das vias respiratórias (MARTINS, 1992; DI FÁBIO & ROSSINI, 2000).

As imunoglobulinas nas secreções respiratórias das aves são originadas da síntese local de IgA e IgG no trato respiratório e tecidos linfóides localizados no globo ocular. Além disso, ocorre transferência de IgG via corrente sanguínea para o aparelho respiratório (KING & CAVANAGH, 1991; COOK *et al.*, 1992; TORO *et al.*, 1993; GELB *et al.*, 1998). A imunidade respiratória local nas espécies aviárias é dependente dos tecidos linfóides localizados no globo ocular e na região traqueobrônquica e os anticorpos anti-VBIG são muito importantes na resposta imune contra a infecção viral (MARTINS, 1992; GELB *et al.*, 1998). A imunidade ativa

confere resistência à infecção com amostra de vírus homóloga e a resposta imune mediada por células pode ter um papel crítico na resposta contra a infecção pelo VBIG, uma vez que a imunidade humoral não tem correlação com a proteção. Também, a reexcreção do vírus pode ocorrer em aves com altos títulos de anticorpos neutralizantes (DHINAKAR RAJ & JONES, 1996; GELB *et al.*, 1998). Segundo JANSE *et al.*, (1994), a imunidade local contra a BIG é mediada por linfócitos T.

Os resultados de GELB *et al.* (1998) sugerem que os anticorpos lacrimais produzidos na glândula de Harder e tecido linfóide conjuntival não são, primariamente, responsáveis pela imunidade contra VBIG no trato respiratório. Segundo esses autores, os anticorpos produzidos em sítios da mucosa do trato respiratório superior podem ter uma maior importância na imunidade protetora, juntamente com a imunidade mediada por células.

CONTROLE

Apesar de transcorridos mais de 50 anos desde o isolamento e identificação do VBIG, a doença continua a ser um dos principais agravos para a avicultura industrial em várias partes do mundo (COOK *et al.*, 1999). A variabilidade antigênica do vírus, juntamente com os diferentes tropismos demonstrados pelas estirpes virais dificultam o diagnóstico e controle da infecção (VILLEGAS, 1997). Os primeiros passos para o desenvolvimento de um programa de controle efetivo para a BIG incluem a identificação e caracterização do seu agente etiológico. A adoção de métodos rápidos, específicos e sensíveis de detecção e classificação de estirpes virais tem sido recomendada por muitos pesquisadores. O uso de anticorpos monoclonais e as técnicas moleculares são os métodos mais avançados para esse fim (WENTZ, 1992; DI FÁBIO, 1993; FALCONE *et al.*, 1997; CARDOZO, 1998; COOK, 1999; HOERR, 1999; ROCHA, 2000; SOUZA *et al.*, 2001; RESENDE, 2003; DI FÁBIO, 2004).

Na avicultura industrial mundial, o controle da BIG tem sido feito, com relativo sucesso, pela combinação de medidas básicas de Biosseguridade (isolamento, higiene, lotes com idade única, controle de trânsito de veículos e pessoas, "all-in-all-out" e vazio sanitário), que incluem programas de vacinação desenvolvidos de acordo com a região ou país (VILLEGAS, 1997; HOERR *et al.*, 1999; RESENDE, 2003; BERNARDINO, 2004). A vacinação com 1 dia de idade é um método aceito pela maioria dos pesquisadores e produtores. O vírus vacinal tem a capacidade de infectar as aves inclusive na presença de anticorpos maternos. Apesar da inativação de algumas partículas virais pelos anticorpos maternos, a grande capacidade de colonização do vírus no trato respiratório superior possibilita a estimulação do sistema imune na primovacinação,

deixando o sistema imunológico preparado para uma resposta mais intensa e mais duradoura durante o segundo contato com o vírus vacinal (VILLEGAS, 1997). O método de vacinação mais comumente empregado nessa idade é a vacinação por aspersão por gota grossa, embora a vacinação individual via ocular ou nasal também seja eficiente, desde que os procedimentos sejam realizados adequadamente (VILLEGAS, 1997). Na vacinação massal via água de bebida, deve-se utilizar um volume de solução vacinal que possa ser consumida no intervalo entre 1 a 2h, uma vez que os coronavírus são muito sensíveis às condições ambientais (KING & CAVANAGH, 1991; BERNARDINO, 2004).

Em galinhas de vida longa, os programas de vacinação durante os períodos de cria e recria geralmente contemplam a administração de vacinas vivas atenuadas seguidas de vacinação utilizando antígeno inativado antes da fase de produção. A vacinação durante a fase de produção é uma prática adotada por várias empresas em todo o mundo nesse tipo de ave (VILLEGAS, 1997; RESENDE, 2003). Em frangos de corte, a vacinação no primeiro dia de vida por aspersão por gota grossa é uma prática estabelecida por várias empresas. A necessidade de revacinação deve ser analisada cuidadosamente e, se feita, deve ser realizada antes da terceira semana de idade para diminuir a possibilidade de reações vacinais (VILLEGAS, 1997).

Em relação às reações vacinais, o VBIG é muito reativo quando empregado em vacina aviária e, por essa razão, o manejo correto da vacinação é muito importante para evitar as chamadas "reações de rolagem", que são passagem lateral do vírus vacinal para aves não imunizadas e destas mais uma vez para aquelas que ainda não receberam o vírus vacinal das primeiras vacinadas. O resultado desse fenômeno é um processo respiratório causado pelo vírus vacinal e que ocorre de 18 a 21 dias após a vacinação inicial, na maioria dos casos. Quanto pior for a qualidade da vacinação, maior será a duração da fase respiratória devido às reações de rolagem. Agentes imunodepressores como o vírus da doença infecciosa bursal (VDIB) também podem agravar as reações vacinais. Se houver infecção por um agente secundário, como *E. coli*, a reação será mais intensa com as manifestações clínico-morfológicas da infecção secundária (DI FÁBIO, 1992). Além disto, não há diferença significativa na habilidade de induzir a susceptibilidade à infecção por *E. coli* entre o VBIG virulento e o vírus vacinal e, portanto, as medidas adequadas de manejo devem ser priorizadas em todas as fases da criação avícola (MATTHIJS et al., 2003).

Sorotipo indicado para a vacinação

No Brasil, a vacinação contra o VBIG tem sido feita desde 1980 e o único sorotipo/genotipo liberado

pelos órgãos oficiais é o *Massachusetts* (RESENDE, 2003; BERNARDINO, 2004). Tem-se demonstrado que as vacinas contra BIG preparadas com cepas pertencentes ao sorotipo *Massachusetts* proporcionam um amplo espectro antigênico. Por essa razão, a maioria dos programas vacinais inclui esse sorotipo como base principal (VILLEGAS, 1997). Entretanto, apesar da vacinação cuidadosa, existem situações em que as vacinas licenciadas existentes não proporcionam proteção adequada contra desafios de novos sorotipos. Uma destas situações ocorreu no Reino Unido no início dos anos 90, com o surgimento do vírus 4/91 ou 793 B (PARSONS, 1992; COOK et al., 1996; COOK 1997), cuja vacinação utilizando o sorotipo *Massachusetts* promovia pobre proteção contra o desafio viral. Uma nova vacina atenuada foi desenvolvida com esse novo sorotipo, que é uma grande ameaça para a avicultura não só no Reino Unido e maior parte da Europa, mas também em outras partes do mundo (COOK et al., 1996; COOK, 1997). Essa vacina foi eficaz em proteger as aves tanto isoladamente quanto associada com o sorotipo *Massachusetts* (COOK et al., 1999; COOK et al., 2001). Uma estratégia de vacinação utilizando o sorotipo *Massachusetts* no primeiro dia de idade seguido de uma vacinação utilizando a amostra 4/91 após 2 semanas promoveu uma resposta imune protetora contra vários outros sorotipos (COOK et al., 1999). Esses resultados estão de acordo com VILLEGAS (1997), que afirma que o uso de outros sorotipos associados ao *Massachusetts*, como o *Connecticut*, amplia o espectro antigênico, resultando no desenvolvimento de anticorpos contra outros sorotipos de VBIG. A proteção cruzada conferida por diferentes sorotipos de VBIG confirma a significância do conceito de protectotipos para o controle da BIG, que é mais importante nesse contexto do que o conhecimento do sorotipo do novo isolado (DI FÁBIO, 1992; COOK et al., 1999; DI FÁBIO & ROSSINI, 2000; DI FÁBIO, 2004).

As vacinas atenuadas de sorotipos variantes somente devem ser utilizadas em áreas onde este tipo de vírus for responsável por grandes perdas econômicas e, após a sua completa caracterização, pois há o risco de se introduzir um novo sorotipo na região, bem como a ocorrência de recombinação genética entre os diferentes sorotipos, gerando uma nova variante, que pode ter conseqüências desastrosas para a avicultura (DI FÁBIO, 1992; MARTINS, 1992; DI FÁBIO & ROSSINI, 2000; ROCHA, 2000; RESENDE, 2003; DI FÁBIO, 2004).

Apesar dos programas de vacinação sistemática contra o VBIG, os surtos da doença continuam ocorrendo em plantéis vacinados em vários países, inclusive no Brasil. Esses surtos têm ocorrido devido a vários fatores que podem estar diretamente relacionados à vacina: como hipervariabilidade viral, alta ou baixa atenuação do vírus vacinal; e à ave: como processos imunodepressores, destacando-se a DIB e outras

doenças concomitantes, manejo geral inadequado ou falhas diretas no processo de vacinação (RESENDE, 2003; BERNARDINO, 2004).

A elaboração de vacinas autógenas inativadas para serem utilizadas em aves de vida longa tem sido sugerida por alguns autores para o controle da BIG nos casos de identificação e caracterização de amostras variantes que não sejam neutralizadas pela resposta imune induzida pela vacina do sorotipo liberado para uso no país (DI FÁBIO, 1992; MARTINS, 1992; DI FÁBIO & ROSSINI, 2000; RESENDE, 2003; DI FÁBIO, 2004).

REFERÊNCIAS

- BERNARDINO, A. Programas de vacinação. In: MENDES, A.A.; NAAS, I.A.; MACARI, M. (Eds.). *Produção de frangos de corte*. Campinas: FACTA, 2004. p.179-199.
- BOOTS, A. M.H.; BENAÏSSA-TROUW, B.J.; HESSELINK, W.; RIJKE, E.; SCHRIER, G.; HENSEN, E.J. Induction of anti-viral immune responses by immunization with recombinant DNA encoded avian coronavirus nucleocapsid protein. *Vaccine*, n.10, p.119-125, 1992.
- BRENTANO, L.; KLEIN, T.A.P.; JAENISH, F.R.; BACK, A.; CASTRO, A.G.M. Isolamento do vírus da bronquite infecciosa das aves de surtos da doença associada a lesões atípicas de miopatia peitoral. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. *Anais*. Santos: 2005. v.7, p.232. Suplemento.
- CALLISSON, S.A.; JACKWOOD, M.W.; HILT, D.A.A. Infectious bronchitis virus S2 gene sequence variability may affect S1 subunit specific antibody binding. *Virus Genes*, v.19, p.143-151, 1999.
- CARDOZO, R.M. *Produção e caracterização de anticorpos monoclonais contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas*. 1998. 69p. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.
- CAVANAGH, D.; DAVIS, P.J.; COOK, J.K.A. Infectious bronchitis virus: evidence for recombination within the Massachusetts serotype. *Avian Pathology*, v.21, p.401-408, 1992.
- CAVANAGH, D.; ELIS, M.M.; COOK, J.K.A. Relationship between sequence variation in the spike protein of infectious bronchitis virus and the extent of cross-protection in vivo. *Avian Pathology*, v.26, p.63-74, 1997.
- CAVANAGH, D. Coronavírus na avicultura. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. *Anais*. Santos: FACTA, 2005. p.139-150.
- COOK, J.K.A.; DARBYSHIRE, J.H.; PETERS, R.W. The use of chicken tracheal organ cultures for the isolation and assay of avian infectious bronchitis virus. *Archives of Virology*, v.50, p.109-118, 1976.
- COOK, J.K.A. Controle da bronquite infecciosa. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1990, Campinas. *Anais*. Campinas: FACTA, 1990. p.43-49.
- COOK, J.K.A.; ORBELL, S.J.; WOODS, M.A.; HUGGINS, M.B. A survey of the presence of a new infectious bronchitis virus designated 4/91 (793B). *Veterinary Record*, n.138, p.178-180, 1996.
- COOK, J.K.A. Bronquite infecciosa aviária. In: SIMPÓSIO SOBRESANIDADE AVÍCOLA, 1997, São Paulo. *Anais*. São Paulo: FACTA, 1997. p.13-27.
- COOK, J.K.A. Diagnostico de la bronchitis infecciosa. In CONGRESO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 16., 1999, Lima. *Anais*. Lima: 1999. p.25-27.
- COOK, J.K.A.; SARAH, J.O.; MARTYN, A.W.; MCHAEAL, B.H. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated 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, M.B.; ORBELL, S.J. Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Avian Pathology*, v.30, p.423-426, 2001.
- DHINAKAR RAI, G.; JONES, R.C. Immunopathogenesis of infection in SPF chicks and commercial broilers chickens of a variant infectious bronchitis virus of economic importance. *Avian Pathology*, v.25, p.481-501, 1996.
- DI FÁBIO, J. Bronquite infecciosa das galinhas: vacinar frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1992, Santos. *Anais*. Santos: FACTA, 1992. p.151-164.
- DI FÁBIO, J. Aspectos clínicos e controle da BIG no Brasil. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. *Anais*. Santos: FACTA, 1993. p.1-8.
- DI FÁBIO, J. & ROSSINI, L.I. Bronquite infecciosa das galinhas. In: MACARI, M.; BERCHIERI JÚNIOR, A.B. (Eds.). *Doenças das aves*. Campinas: FACTA, 2000. p.293-300.
- DI FÁBIO, J. Classificação viral x variantes brasileiras. *Aveworld*, v.2, n.12, p.20-25, 2004.
- EL-HOUADFI, M.; JONES, R.C.; COOK, J.K.A.; AMBALL, A.G. The isolation and characterization of six avian infectious bronchitis virus isolated in Morocco. *Avian Pathology*, v.15, p.93-105, 1986.
- EPIPHANIO, E.O.B. *Cultivos de Anéis de Traquéia para ensaios com o vírus da Bronquite Infecciosa das galinhas*. 1998. 73p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.
- FALCONE, E.; D'AMORE, E.; TRANI, D.L.; SILLI, A.; TOLLIS, M. Rapid diagnosis of avian infectious bronchitis virus by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, v.64, n.2, p.125-130, 1997.
- GELB, J.; NIX, W.A.; GELLMAN, S.D. Infectious bronchitis virus antibodies in tears and their relationship to immunity. *Avian Diseases*, v.42, p.364-374, 1998.
- HIPÓLITO, O.; SILVA, J.M.L.; HSIUNG, H.M. *Bronquite infecciosa das galinhas a doença no Brasil*. São Paulo, 1979. 72p.
- HOERR, F.J. Aspectos clínicos y programa de prevención en bronquitis infecciosa. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 16., 1999, Lima. *Anais*. Lima: 1999. p.47-51.
- 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, 1994.

- JANSE, E.M.; VAN ROOZELAAR, D.; KOCH, G. Leukocyte subpopulation in kidney and trachea of chickens infected with IBV. *Avian Pathology*, v.23, p.513-523, 1994.
- JUNGHERR E.L.; CHOMIAK, T.W.; LUGINBUHL, R.E.; Immunologic differences in strain of infectious bronchitis virus. ANNUAL MEETING OF THE UNITED STATES LIVESTOCK SANITARY ASSOCIATION, 60., 1956, Chicago, Ill. *Proceedings*. Chicago: USLSA, 1956. p.203-209.
- KEELER, C.L.; REED, K.L.; NX, W.A.; GELB, J. Serotype identification of avian infectious bronchitis by RT-PCR of the peplomer (S1) gene. *Avian Diseases*, v.42, p.275-284, 1998.
- KING, D.J. & CAVANAGH, D. Infectious Bronchitis. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YÖDER JUNIOR, H.W. (Eds.). *Diseases of poultry*. 9.ed. Ames: Iowa State University Press, 199. p.471-484.
- MARTINS, N.R.S. Alguns aspectos da etiopatogenia de bronquite infecciosa. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1992, Santos. *Anais*. Santos: FACTA, 1992. p.145-150.
- MATTHIJS, M.G.R.; VAN ECK, J.H.H.; LANDMAN, W.J.M.; STEGEMAN, A. Ability of massachusetts-type infectious bronchitis virus to increase colibacillosis susceptibility in commercial broilers: a comparison between vaccine and virulent field virus. *Avian Pathology*, v.32, p.473-481, 2003.
- MURPHY, F.H.; GIBBS, E.P.J.; HORZINEK, M.C.; STUDDERT, M.J. *Veterinary virology*. 3.ed. New York: Academic Press, 1999. p.495-509.
- NAQI, S.A. Advances in diagnostic techniques for avian infectious bronchitis. In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, 1996, New Delhi. *Anais*. New Delhi, 1996. v.2, p.369-373.
- PARSONS, D.; ELLIS, M.M.; CAVANAGH, D.; COOK, J.K.A. Characterization of an IBV isolated from vaccinated broiler breeder flocks. *Veterinary Record*, n.131, p.408-411, 1992.
- RESENDE, J.S. *Genotipificação e filogenia de isolados de vírus oriundos de surtos de bronquite infecciosa das galinhas na avicultura industrial do Estado de Minas gerais, Brasil, no período entre 1972 e 1989*. 2003. 163p. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- ROCHA, F.R.T. *Produção e caracterização de anticorpos monoclonais contra a glicoproteína S1 do vírus da bronquite infecciosa das galinhas*. 2000. 31p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.
- ROSSINI, L.I. & MONTEIRO, M.C.B. Problemas respiratórios em frangos de corte. In: MENDES, A.A.; NAAS, I.A.; MACARI, M. (Eds.). *Produção de frangos de corte*. Campinas: FACTA, 2004. p.269-270.
- SANTOS, B.M.; FARIA, J.E.; RIBEIRO, V.V. Doenças virais de importância nas aves. Viçosa: Ed. UFV, 2005. p.35-40. (Caderno Didático n. 13).
- SOUZA, C.M.; ROCHA, F.R.T.; MARTINS, N.R.S.; RESENDE, J.S.; JORGE, M.A. RAMPINELLI, A.P. Production of monoclonal antibodies against conserved components of infectious bronchitis virus. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.53, n.5, 2001.
- TORO, H.; LAVAUD, P.; VALLEIOS, P.; FERREIRA, A. Transfer of IgG from serum to lachrymal fluid in chickens. *Avian Diseases*, v.37, p.60-66, 1993.
- VILLEGAS, P. Control de reacciones respiratorias. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 16., 1997, México. *Anais*. México: 1997. p.388-391.
- WENTZ, I. Bronquite infecciosa: Que cepa vacinal usar? In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1992, Santos. *Anais*. Santos: FACTA, 1992. p.165-167.

Recebido em 24/8/05

Aceito em 22/9/05