

**REDVET** Rev. electrón. vet. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> -<http://revista.veterinaria.org>  
Vol. 11, N° 03, Marzo/2010– <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310.html>

## **Bronquitis infecciosa aviar: diagnóstico y control**

Avian infectious bronchitis: diagnosis and control

**Acevedo Beiras, Ana María**

Grupo de Virología Animal. Dirección de Microbiología. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA)

E-mail: [acevedo@censa.edu.cu](mailto:acevedo@censa.edu.cu)

### **RESUMEN**

La bronquitis infecciosa aviar (BIA) es una enfermedad que ocasiona un impacto socio-económico severo en la industria avícola mundial. Es una enfermedad respiratoria aguda, altamente contagiosa, caracterizada primariamente por signos respiratorios en los pollos en crecimiento. En las ponedoras, la sintomatología respiratoria es menor pero provoca una disminución marcada en la producción y calidad del huevo. El agente etiológico de esta enfermedad es el virus de la bronquitis infecciosa aviar, un *Coronavirus* del grupo 3 de la familia *Coronaviridae*, orden *Nidovirales*. El virus se replica en los tejidos del tracto respiratorio y en muchos tejidos a lo largo del tracto alimentario. Este virus puede infectar otras especies de aves además de los pollos. Los signos clínicos característicos son tos, estornudos, estertores traqueales, ojos acuosos, letargo y en los pollos, especialmente los jóvenes, se presentan descargas nasales. Estos signos son indicativos pero no tienen por sí solo valor diagnóstico y la confirmación requiere el aislamiento o la demostración directa de la presencia del virus aunque la serología puede ser útil en algunas circunstancias. El diagnóstico de laboratorio requiere el aislamiento viral y su identificación. Se emplean las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), inhibición de la hemaglutinación (HI) y ensayos inmunoenzimáticos (ELISA), así como la microscopía electrónica, anticuerpos monoclonales, virus neutralización (VN), inmunohistoquímica, ensayos de inmunofluorescencia y de inmunización desafío en pollos. Son ampliamente usadas vacunas vivas e inactivadas en el control de la enfermedad.

**Palabras clave:** bronquitis infecciosa aviar | diagnóstico | control.

### **ABSTRACT**

Avian infectious bronchitis (BIA) is a disease that provokes a severe socio-economic impact in poultry world industry. It is a breathing sharp disease, highly contagious, characterized primarily for breathing signs in chickens in growth. In the egg-laying, the breathing sintomatology is minor but it causes a marked decrease in the production and quality of the egg. The etiologic agent of this disease is the virus of the avian infectious bronchitis, a group 3 *Coronavirus* in the family *Coronaviridae* of the *Nidovirales*. The virus is replied in the tejids of the breathing tract and in many others along the alimentary tract. This virus could infect other species of birds besides the chickens. The clinical characteristic signs are cough, sneezes, tracheals rales, watery eyes, lethargy and in the chickens, especially in youth ones, nasal discharges. These signs are indicative but only they haven't diagnosis value and the confirmation requires the isolation or the direct demonstration of the virus presence although serology could be useful in some circumstances. The laboratory diagnosis requires virus isolation and its identification. Are employed techniques as reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), haemagglutination inhibition (HI), enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), as well as electron microscopy, monoclonal antibodies, virus neutralization (VN), immunohistochemical or immunofluorescence tests, and immunisationchallenge trials in chickens. They are thoroughly used live and inactivated vaccines in the control of the disease.

**Key words:** avian infectious bronchitis | diagnosis | control.

## INTRODUCCIÓN

La industria avícola constituye la fuente proteica predominante en muchos países. En Cuba, dentro de las especies animales de mayor interés económico se encuentran las aves, debido a que cuenta con un corto ciclo de explotación, buena conversión, su carne es beneficiosa para la salud y brinda la posibilidad de disponer de productos procesados derivados de esta carne y otros como el huevo, esencial para la alimentación.

En Cuba, la bronquitis infecciosa aviar (BIA) se reportó asociada a la forma respiratoria crónica de la enfermedad (Guilarte, 1985), se logró el aislamiento viral en embrión de pollo y su identificación por virus neutralización. Para el control de la enfermedad se introdujo la vacunación con el empleo de vacuna viva atenuada cepa H120 con resultados satisfactorios durante varios años. Sin embargo, con el empleo de la prueba ELISA en el diagnóstico serológico, Cuello *et al.*, en los años 1995 y 2000 observaron un descenso marcado de anticuerpos entre tres y seis meses post-vacunación de la tercera dosis (Cuello, 2003; Noda, 2004) como evidencia de una pobre inmunidad en las ponedoras. En la

actualidad, se realiza solamente el diagnóstico por aislamiento viral, y es difícil su identificación por métodos convencionales.

La BIA es una enfermedad que ocasiona un impacto socio-económico severo en la avicultura mundial debido a que las aves infectadas se caracterizan por tener una pobre ganancia de peso y una rápida declinación en la producción y calidad de los huevos.

El agente etiológico de esta enfermedad es el virus de la bronquitis infecciosa aviar clasificado dentro del género *Coronavirus*, familia *Coronaviridae*, orden *Nidovirales*. El virus se replica en los tejidos del tracto respiratorio y en muchos tejidos a lo largo del tracto alimentario.

La BIA presenta una variedad de formas clínicas, una de las principales es la enfermedad respiratoria. La infección del oviducto puede conducir a daños permanentes en las aves inmaduras, en las gallinas puede producir cese de la puesta o la producción de huevos con cáscaras finas y deformadas con pérdida de pigmentación. Puede ser nefropatogénica causando nefritis, urolitiasis y mortalidad.

El diagnóstico de laboratorio requiere el aislamiento o la detección directa de la presencia del virus, aunque la serología puede ser útil en algunas circunstancias. Los ensayos de RT-PCR son comúnmente usados para identificar genotipos del virus, los de inhibición de la hemaglutinación para determinar serotipos y los ensayos de ELISA para diagnóstico serológico. Otros ensayos son empleados como la microscopía electrónica, anticuerpos monoclonales, virus neutralización, inmunohistoquímica o inmunofluorescencia.

Son ampliamente usadas vacunas vivas e inactivadas y el amplio uso de las mismas puede complicar tanto el aislamiento viral como la serología en el diagnóstico de la enfermedad (Manual OIE, 2008).

## **OBJETIVO**

El presente trabajo tiene como objetivo reunir parte del nuevo conocimiento publicado sobre la BIA, su agente etiológico, patogénesis, epidemiología, signos clínicos entre otros aspectos de interés, haciendo énfasis en el diagnóstico y control de la enfermedad.

## **HISTORIA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA**

El virus de la BIA fue el primer coronavirus aislado. Observado por primera vez en los Estados Unidos de América, en el norte de Dakota en 1930. Un reporte de Schalk y Hawn en 1931 (Schalk, 1931) de los signos clínicos en pollos afectados y estudios de laboratorio preliminares de estos casos, es reconocido como el primer reporte de BIA. Inicialmente esta enfermedad fue reconocida como una enfermedad respiratoria aguda principalmente de

los pollos jóvenes; sin embargo, más tarde se observó también en inmaduros y ponedoras.

La BIA está ampliamente distribuida en el mundo. Existen fundamentalmente tres serotipos del virus de la BIA en Norte América, los denominados Massachussets, Connecticut y Arkansas 99. En Europa, las denominadas variantes holandesas, designadas mediante números (D-274, D-212).

Aún ocurren brotes en poblaciones de aves vacunadas y las cepas de virus aislados de estos brotes a menudo son de un serotipo diferente del virus vacunal.

La enfermedad clínica demostrada se ha reportado en un período de Enero a Junio del 2008 en países como Argentina, Australia, Bolivia, Brasil, Burkina Faso, Canadá, Chile, Colombia, Costa Rica, Dinamarca, Polinesia francesa, Alemania, Guatemala, Irán, Israel, Japón, Líbano, Nepal, Holanda, Nueva Caledonia, Nueva Zelanda, Noruega, Paquistán, Suecia, Tailandia, Reino Unido, Estados Unidos de América, Uruguay, Vietnam y Zimbawe (World Animal Health Information Database -WAHID, 2009-).

## **IMPORTANCIA ECONÓMICA**

La BIA se considera una de las principales enfermedades virales que causa pérdidas económicas significativas a la industria avícola mundial, debido a que afecta el desarrollo de aves de engorde y ponedoras. Las aves infectadas se caracterizan por tener una pobre ganancia de peso y una rápida disminución en la producción y calidad de los huevos (Wang, 1997; Song, 1998).

La morbilidad es generalmente alta, 100% en la mayoría de los casos, pero la mortalidad frecuentemente es baja (5%), ésta aumenta cuando actúan cepas nefropatógenas (Zanella, 2003) o cuando se presenta complicada con otros agentes patógenos como *Escherichia coli*, micoplasmas y otros virus (Naqi, 2001).

La naturaleza altamente transmisible de la enfermedad y la existencia de múltiples serotipos del virus han complicado e incrementado el costo de los intentos por prevenir la enfermedad por inmunización.

## **ETIOLOGÍA**

El agente etiológico es el virus de la bronquitis infecciosa aviar. Es un virus pleomórfico pero generalmente redondeado, con envoltura de 60-200 nm de diámetro, miembro del género *Coronavirus*, familia *Coronaviridae*, orden *Nidovirales*.

El virus de la BIA y otros coronavirus aviáres de pavos y faisanes están clasificados dentro del grupo 3 de los coronavirus. (Cavanagh, 2003).

## **PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS**

La mayoría de las cepas del virus de la BIA son inactivadas después de 15 minutos a 56°C y después de 90 minutos a 45°C. Se debe evitar almacenar el virus a -20°C, sin embargo, el líquido alantoideo infeccioso ha permanecido viable después de almacenado a -30°C por varios años.

Los tejidos infectados se preservan bien conservados en glicerol al 50%. (Otsuki, 1979).

Existe una variación entre las cepas con respecto a la estabilidad al pH. En estudios realizados, la reducción en el título después de un tratamiento a pH 3 a temperatura ambiente por 4 horas varió desde 1-2 log<sub>10</sub> en la mayoría de los aislados, a 5 log<sub>10</sub> para otros (Cowen, 1975). En cultivo celular el virus es más estable en medio a pH 6.0 y 6.5 que a pH 7.0 a 8.0 (Alexander, 1975).

El virus de la BIA es lábil al éter, sin embargo, algunos virus han sobrevivido al éter al 20 % a 4°C por 18 horas (Otsuki, 1979).

Se considera que este virus es fácilmente destruido por la luz solar, el calor, los desinfectantes y otros factores del medio ambiente. El tratamiento con una concentración final de 0.05 (Cook, 1986) o 0.1% de beta-propiolactona o 0.1% de formalina (King, 1984) elimina la infectividad del virus.

## **ORGANIZACIÓN DEL GENOMA VIRAL**

El genoma viral es una molécula ARN de simple cadena, polaridad positiva de 27600 nucleótidos.

### **Proteínas virales**

El virus de la BIA contiene cuatro proteínas estructurales, las proteínas de la espícula (S), la membrana (M), nucleocápsida (N) y pequeñas proteínas de membrana (E).

La glicoproteína S tiene un peso molecular de 150-180 KDa, posee 3 dominios estructurales, un dominio externo que se subdivide en dos subdominios S1 y S2, (constituyen la corona que da nombre a este tipo de virus cuando se visualizan por microscopía electrónica), un dominio transmembranal y un corto dominio C-terminal. Esta proteína es

responsable de la unión del virus a moléculas receptoras sobre las células hospederas y la fusión de la membrana del virión con membranas de la célula hospedera, para liberar el genoma viral dentro de la célula.

La subunidad S1 está relacionada con la infectividad, la actividad hemaglutinante, virus neutralización y lleva secuencias serotipo-específicas (Cavanagh, 1986), mientras que la subunidad S2 es responsable de la fusión de la membrana.

La glicoproteína M es altamente hidrofóbica y variable, se encuentra asociada a la proteína N para formar parte de la nucleocápside y en la envoltura, se asocia además con la proteína E de 12 KDa. Esta es imprescindible para el ensamblaje de la partícula viral y su liberación por *budding* a través de las membranas del complejo de Golgi.

La proteína N es una fosfoproteína de 50-60 KDa posee 3 dominios estructurales relativamente conservados, se fosforila rápidamente en el citosol una vez sintetizada y juega un papel en la replicación del ARN viral, la transcripción, ensamblaje y en la inmunidad a la infección.

La proteína E juega un papel esencial en el ensamblaje del virión (Lai, 1997).

Los genes de las proteínas estructurales (S-E-M-N), 5´UTR-gen de la polimerasa- UTR 3´, tienen aproximadamente 500 nucleótidos cada uno, donde UTR son regiones no traducidas.

Al igual que otros virus ARN, que emplean ARN polimerasas ARN dependientes para la replicación del genoma sin actividad correctora de errores, los coronavirus presentan una elevada tasa de mutaciones. Además, estos virus muestran elevada frecuencia de recombinación lo que ha sido demostrado para los virus representativos de todos los grupos del género.

## **PATOGÉNESIS**

El curso de la enfermedad en los pollos jóvenes es de 7-21 días dependiendo de la severidad de la infección.

El virus inicialmente infecta el tracto respiratorio superior, donde está restringido a las células ciliadas y secretoras de mucus (Dhinaker, 1997). Los títulos de virus vivo son máximos en la nariz y tráquea en tres días y permanecen de dos a cinco días después (Ambali, 1990; Bacon, 1966).

Títulos de virus similares se encuentran en pulmones y sacos aéreos. Pequeñas áreas de neumonía pueden ser observadas en los pulmones, aunque no se considera que el virus de la BIA cause neumonía (Dhinaker, 1997).

La infección es comúnmente seguida por infecciones bacteriales secundarias, las cuales pueden ser la principal causa de la enfermedad debilitante, incluyendo la mortalidad (Vandekerchove, 2004).

Además de replicarse en muchos tejidos respiratorios (incluyendo nariz, tráquea, pulmones y sacos aéreos, causando enfermedad respiratoria), el virus crece en muchas otras superficies epiteliales, incluyendo riñones, oviducto, testículos y muchas partes del tracto alimentario como esófago, proventrículos, duodeno, yeyuno, bolsa de Fabricio, tonsilas cecales, recto, y cloaca (Cavanagh, 2003; Dhinaker, 1997). Comúnmente la infección de los tejidos entéricos no se manifiesta clínicamente.

Algunas cepas del virus son intrínsecamente nefropatogénicas, ellas causan nefritis cuando son inoculadas experimentalmente en pollos libres de patógenos específicos, causando mortalidad (Cook, 2001; Lambrechts, 1993); Li, 2001; Pensaert, 1994).

La infección del oviducto se asocia con la disminución en la producción de huevos. El virus puede también replicarse en los testículos (Boltz, 2004), en la glándula Harderiana, un pequeño órgano linfoide el cual contribuye con los anticuerpos producidos localmente para proteger la mucosa óculo-nasal (Dhinaker, 1997) y en la bolsa de Fabricio (Ambali, 1990; Seo, 1997).

El virus puede establecer infecciones persistentes en los pollos, lo que provoca una diseminación del virus en las heces durante varios meses después de la exposición inicial.

## **DIVERSIDAD ANTIGÉNICA**

El virus de la BIA es uno de los virus genéticamente más inestables, durante su replicación se producen seis ARN mensajeros por un mecanismo de transcripción discontinua (virus anidado), pudiendo ocurrir nuevas recombinaciones (Cavanagh, 1997). Esto sugiere, que la población de virus de BIA está en un estado de cambio continuo en su genoma, específicamente en la región hipervariable del gen que codifica la porción S1 de la proteína de la espiga (S) y son los que dan lugar a nuevos serotipos (Shi, 2000; Lee, 2001). Esto podría ser consecuencia de presión inmunológica por el amplio uso de vacunas, infecciones mixtas (varios serotipos) o disminución del serotipo dominante (Lee, 2001; Zanella, 2003).

Las variaciones genéticas y antigénicas son observadas en todo el mundo (Lee 2001, Shi, 2000). Existen quizás cientos de serotipos. Uno de otro difieren entre 20-25% de los aminoácidos de S1 (Cavanagh, 2005; Farsang, 2002). Los polipéptidos de S2 difieren entre un 10-15% (Cavanagh, 2005).

Sin embargo, algunos serotipos difieren aproximadamente en 50% de los aminoácidos de S1 (Kuo, 2000).

Diferencias tan pequeñas como de 2 a 3% en los residuos de aminoácidos (10 a 15 residuos) pueden resultar en un cambio de serotipo (Kant, 1992; Cavanagh, 1992).

Análisis realizados con anticuerpos monoclonales han revelado que muchos de los aminoácidos involucrados en la formación de epítopes VN están localizados dentro del primer y tercer cuarto del polipéptido lineal S1 (De Wit, 2000), que es donde cepas estrechamente relacionadas también difieren (Farsang, 2002). Estas partes de S1 son muy tolerantes en cambios de aminoácidos, cambios que probablemente confieren ventaja selectiva.

Nuevos serotipos pueden surgir por recombinación (Jia, 1995) así como por mutaciones espontáneas (Wang, 2000). Como ellos emergen, es importante ser capaces de identificarlos rápidamente y diferenciarlos de las cepas vacunales en uso.

## **RELACIÓN ENTRE EL VIRUS DE LA BIA Y OTROS CORONAVIRUS**

Los coronavirus de pavos están genética (Breslin, 1999) y antigénicamente relacionados al virus de la BIA (Guy, 2002). Han sido detectados en el suero de pavos anticuerpos que se unen a antígenos del virus de la BIA (Weissman, 1987).

La microscopía electrónica y algunos análisis antigénicos han indicado que los faisanes fueron infectados por un coronavirus, algunas veces asociado con enfermedad respiratoria y algunas veces asociado con enfermedad de los riñones (Spackman y Cameron, 1983; Pennycott, 2000). El coronavirus de faisán ha sido detectado en muchos faisanes. El grado de relación genética al virus de la BIA es el mismo que entre BIA y el coronavirus de pavo, excepto con relación a la proteína S, donde el coronavirus de faisán y la BIA están más relacionados que el coronavirus de pavo.

## **RANGO DE HOSPEDERO DEL VIRUS DE LA BIA**

Los coronavirus genéticamente similares a BIA están siendo cada vez más detectados en especies aviares. Existe evidencia de que la BIA tiene un rango de hospedero amplio y no solo comprende aves galliformes, sino también aves no galliformes.

En China, se han aislado coronavirus de pavo (*Pavo*), gallinas de Guinea (*Numida meleagris*), perdices (*Alectoris*) y también de aves no gallináceas, trullos (*Anas*), que se criaban cerca de aves domésticas.



Todos los coronavirus están muy relacionados en cuanto a la organización genómica y, además, en la secuencia génica al virus de la BIA. La secuencia génica y la infección experimental de pollos han indicado que un aislado de pavo fue la cepa vacunal H120, mientras que un aislado de trullo fue posiblemente una cepa de campo de un virus de la BIA nefropatogénico. Por lo tanto, el rango de huéspedes del virus se extiende más allá del pollo (Cavanagh, 2005).

## **RESPUESTA INMUNE AL VIRUS DE LA BIA**

Las bases de la inmunidad al virus de la BIA no están bien claras aún. Los niveles de anticuerpos en el suero no se correlacionan con la protección, aunque se piensa que los anticuerpos locales juegan un papel en la protección del tracto respiratorio (Ignjatovic, 1994).

Después de la infección de los pollos con una cepa virulenta del virus de la BIA, se han detectado anticuerpos específicos por ELISA, ensayos de VN y HI (Meulemans, 2001).

En estudios realizados por Martins (1991) se evidenció que después de la infección con una cepa vacunal viva del virus se detecta una buena respuesta primaria de IgM e IgG. La infección induce además, la secreción de IgA. La IgM, IgA, pasan al líquido amniótico del huevo, la IgG penetra en el embrión y es capaz de neutralizar el virus. Otros autores como Pei (2001) han mostrado que la respuesta de las células T citotóxicas (CTL) en los pollos está correlacionada con la disminución inicial de la infección y signos clínicos. La actividad CTL fue mediada por las células CD8+CD4-.

Después de la infección de los pollos por el virus de la BIA, se ha detectado el interferón en tráquea y pulmón y en niveles más bajos en plasma, riñón, hígado y bazo (Otsuki, 1987). El interferón tipo I de pollo redujo la replicación del virus de la BIA en cultivo de células de riñón de pollo (Pei, 2001). Además su aplicación oral o intravenosa retardó el ataque de la enfermedad en pollos y su severidad.

Mucho falta por hacer para dilucidar la respuesta inmune y adaptativa al virus de la BIA. (Dhinaker, 1997)

## **EPIDEMIOLOGÍA**

La bronquitis infecciosa es una enfermedad de amplia distribución mundial (Cavanagh, 2005; Gelb, 1997; Liu, 2004; Mardani, 2006; Liu, 2004).

El virus es altamente infeccioso, se disemina mediante aerosoles, directamente por el contacto de pollo a pollo e indirectamente a través de medios mecánicos (equipamiento contaminado, vehículos o materiales del

embalaje de los huevos, entre otros elementos). Varios serotipos pueden co-circular en una región (Capua, 1999).

El período de incubación de la enfermedad es entre las 18-36 horas post-infección dependiendo de la dosis y ruta de inoculación. Los pollos de todas las edades son susceptibles pero la enfermedad es más severa en los pollitos causando mortalidad (Cavanagh, 1997). Con el incremento de la edad los pollos se hacen más resistentes a los efectos nefropatogénicos, lesiones en el oviducto y la mortalidad debido a la infección (Albassam, 1986).

## **SIGNOS CLÍNICOS**

Los signos clínicos característicos son tos, estornudos, estertores traqueales, ojos acuosos, letargo y en los pollos, especialmente los jóvenes, se presentan descargas nasales. Los pollos parecen deprimidos, pueden estar agrupados bajo una fuente de calor y el consumo de alimentos y ganancia de peso son significativamente reducidos.

En los pollos mayores de 6 semanas de edad y en aves adultas los signos clínicos son similares a los señalados pero las descargas nasales no ocurren tan frecuentemente y la enfermedad puede no ser advertida a menos que las aves sean examinadas cuidadosamente. (Cavanagh, 2003; Dhinaker, 1997).

Los pollos jóvenes pueden morir directamente de la infección por el virus pero un gran número muere debido a infecciones bacterianas secundarias (Cavanagh, 2003).

Las aves jóvenes y maduras sufren menos de la infección viral aunque las consecuencias económicas pueden ser altas. La infección en las aves de engorde resulta en retardo del crecimiento. En ponedoras, disminución en la producción y calidad de los huevos.

En los pollos pesados infectados con virus nefropatogénicos hay una recuperación de la fase respiratoria pero comienzan a mostrar signos de depresión, plumas erizadas y aumenta el consumo de agua. En gallinas ponedoras disminuye la producción con cambios en la forma, pigmentación y calidad de los huevos en presencia o no de signos respiratorios (Cook, 1986).

La severidad de la producción declina y puede variar con el período de la puesta y con la cepa de virus.

## **LESIONES**

Las lesiones asociadas con BIA incluyen una moderada inflamación del tracto respiratorio superior. Las aves afectadas muestran una inflamación de la nariz, senos nasales y tráquea. Generalmente, esta inflamación es relativamente suave (mucoide) comparada con otras enfermedades como la laringotraqueítis o la coriza infecciosa. Los sacos aéreos pueden estar húmedos, espumosos, opacos o afectados de forma secundaria con pus de diferentes formas. Tacos caseosos en la tráquea son característicos, especialmente en pollitos.

Las infecciones nefropáticas producen riñones hinchados y sin brillo con los túmulos y uréteres a menudo distendidos con uratos (Cumming, 1963).

El material fluido de la yema puede ser encontrado en la cavidad abdominal de los pollos que están en producción, pero esto también se ve en otras enfermedades que causan una marcada disminución en la producción de huevos. Lesiones permanentes en el oviducto pueden ser una consecuencia de infección con el virus de la BIA en pollitos de 1 día de edad y son una causa de la reducida producción de huevos.

## **DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico de la bronquitis infecciosa requiere del aislamiento o la detección del ácido nucleico viral. Una respuesta elevada de anticuerpos en el suero también puede ser útil.

El aislamiento viral requiere su identificación, para ello se han empleado técnicas como la RT-PCR/RFLP, comúnmente empleada para identificar genotipos del virus. Los ensayos de Inhibición de la hemaglutinación para determinar serotipos y los ELISA para monitoreo general, son a menudo usados para diagnóstico serológico.

Ensayos complementarios incluyen la microscopía electrónica, el uso de anticuerpos monoclonales, la virus neutralización (VN), la inmunohistoquímica o ensayos de inmunofluorescencia y tratamientos de inmunización desafío en pollos.

## **Muestras requeridas y conservación**

En el diagnóstico de la bronquitis infecciosa como en el de muchas enfermedades la toma de muestras es el aspecto más importante, en dependencia de una correcta toma, conservación y envío de la muestra tendremos la seguridad de lograr aislar e identificar el virus, para lo cual debemos tener en cuenta sus requerimientos de temperatura, pH y período de supervivencia, aspectos críticos para tener una respuesta deseada. De lograrlo se garantizaría una excelente efectividad y rapidez diagnóstica.

Las muestras, de acuerdo a la forma en que se presenta la enfermedad, deben ser obtenidas tan pronto como los signos clínicos de la enfermedad sean evidentes. Estas muestras deben ser colocadas en medio de transporte frío y congeladas tan pronto como sea posible.

Para enfermedad respiratoria aguda, se deben tomar exudados del tracto respiratorio superior de aves vivas o tejidos traqueales y pulmón de aves enfermas, colocadas en medio de transporte que contenga penicilina (10,000 Unidades Internacionales [UI]/mL) y estreptomycinina (10 mg/mL).

Para aves con nefritis o problemas en la producción de huevos, deben ser colectadas muestras de riñones u oviducto, además de muestras respiratorias.

En situaciones donde se sospeche la nefritis inducida por bronquitis, se deben seleccionar muestras de riñones para examen histopatológico así como aislamiento viral (Cavanagh, 1999). Muestras de sangre de aves agudamente afectadas y de pollos convalescientes deben ser sometidas a ensayos serológicos. Una alta proporción de virus recuperado ha sido reportado de tonsilas cecales o heces (Alexander, 1978). Sin embargo, aislados del tracto intestinal puede que no tengan relevancia en la infección final o enfermedad clínica.

### **Métodos para la identificación**

Las células presentes en el líquido alantoideo de los huevos infectados pueden ser examinadas para detección de antígenos usando un ensayo con anticuerpo fluorescente (Clarke, 1972) y microscopía electrónica directa para revelar partículas con morfología típica de coronavirus en el líquido alantoideo o en concentrados líquido de cultivo de órganos traqueales (TOCs).

La inmunofluorescencia directa de TOCs infectados ha sido descrita para la detección rápida del virus (Bhattacharjee, 1994), así como la inmunohistoquímica con un anticuerpo monoclonal grupo-específico puede ser usada para identificar virus en membranas corioalantoideas infectadas (Naqi, 1990).

La serotipificación de aislados del virus de la BIA y cepas se ha realizado usando ensayos de inhibición de la hemaglutinación (King, 1984) y virus neutralización en embriones de pollo (Dawson, 1971), TOCs (Darbyshire, 1971) y cultivos celulares (Hopkins, 1974). La neutralización de focos fluorescentes ha sido también aplicada a la diferenciación de cepas (Csermelyi, 1988). Los anticuerpos monoclonales, usualmente empleados en los ELISA han sido útiles en agrupar y diferenciar cepas del virus de la BIA (Koch, 1986).

Todos estos métodos son laboriosos, caros, consumen tiempo y requieren el aislamiento y cultivo de los virus (Kwon, 1993) (Kwon, 1993).

Ensayos como la reverso transcripción acoplado al PCR (RT-PCR) en combinación con análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RT-PCR/RFLP) o con secuenciación han sido descritos para discriminación de diferentes cepas del virus de la BIA o para análisis filogenéticos (Song, 1998; Gelb, 2005). Estos métodos han reemplazado a la inhibición de la hemaglutinación y a la virus neutralización para determinar la identidad de una cepa de campo.

La ventaja primaria de la técnica de RT-PCR/RFLP radica en su rapidez, no requiere del aislamiento viral y la propagación de los aislados virales y puede ser desarrollada directamente a partir de la muestra clínica así como de virus previamente aislados. Este procedimiento diferencia serotipos del virus de la BIA basados en patrones de bandeo electroforético de fragmentos digeridos con enzimas de restricción de S1 después de la amplificación del gen por RT-PCR (Jackwood, 1997) y puede ser usado en unión con una sonda de ADN marcada con biotina para detectar el virus en el líquido de los huevos cosechados después de la inoculación de los huevos con las muestras clínicas (Jackwood, 1992).

La secuenciación de nucleótidos de un fragmento relevante para la detección del gen S1 es la técnica más útil para la diferenciación de cepas del virus de la BIA y se ha convertido en el método de genotipaje de elección en muchos laboratorios. Esta técnica ha producido evidencia de que a menudo ocurre recombinación entre las cepas del virus de la BIA (Cavanagh, 1992).

Recientemente, se ha demostrado que los coronavirus aislados de pavos y faisanes son genéticamente similares al virus de la BIA, teniendo aproximadamente 90% de identidad de nucleótidos en la región II altamente conservada de la región 3' no traducida (UTR) del genoma del virus de la BIA. (Cavanagh, 2001).

La tipificación de las cepas del virus de la BIA es útil para la implementación de medidas de control y para entender la epidemiología y la evolución del virus.

Actualmente se están empleando técnicas de amplificación por PCR a tiempo real o RRT-PCR que permiten diferenciar por ejemplo, las cepas Arkansas, Connecticut, Beaudette, y Massachusetts 41 con una elevada especificidad y sensibilidad, incluso la presencia de cuasiespecies virales (Beaudette).

Esta técnica presenta mayores ventajas respecto a la PCR convencional, mayor sensibilidad, especificidad y reproducibilidad, además de otras ventajas adicionales como pueden ser el tiempo de realización de la prueba, mucho menor y la posibilidad de cuantificar los moldes amplificados (Sánchez, 2005; Jackwood, 2003).

## **Ensayos serológicos**

Los Kits comerciales de ELISA pueden ser usados para monitorear la respuesta de anticuerpos del suero. Los antígenos usados en los kits tienen reactividad cruzada entre serotipos y esto permite el monitoreo serológico general de la respuesta a vacunas y desafíos de campo.

El ensayo de Inhibición de la hemaglutinación es usado para identificar respuesta serotipo-específica a la vacunación y los desafíos de campo especialmente en pollos jóvenes en crecimiento.

## **PREVENCIÓN Y CONTROL**

La magnitud de la infección dependerá de muchos factores incluyendo la cepa de virus, la edad de los animales en el momento de la infección, la nutrición, el medio ambiente.

El manejo ideal incluye el estricto aislamiento y repoblación con solo pollitos de 1 día de edad, seguido de la limpieza y desinfección de las naves.

Las naves deben ser ventiladas con aire filtrado bajo presión positiva. Los métodos comunes de producción, los que incluyen múltiples edades en una nave o múltiples edades en un campo en un área avícola de alta densidad, hace el control más difícil.

La bioseguridad es indispensable, en ocasiones resulta insuficiente debido a que el virus se disemina rápidamente, en consecuencia la vacunación es practicada comúnmente.

Para el control de la BIA actualmente son disponibles tanto las vacunas inactivadas en emulsión de aceite y vacunas vivas atenuadas.

Las vacunas vivas, atenuadas por pases seriados en embrión de pollo o por tratamiento al calor confieren mejor inmunidad local del tracto respiratorio que las vacunas inactivadas (Manual de la OIE, 2008).

Estas vacunas vivas son usualmente aplicadas a los pollos de engorde al día de edad. Algunas veces, aún en situaciones experimentales controladas, el 10 % de los pollos vacunados no responden con una respuesta inmune protectora contra el desafío con la cepa homóloga (Cavanagh, 1997; Nix 2000; Picault, 1986). Esto demuestra que los pollos no son uniformes en su respuesta a la vacunación con el virus de la BIA.

Otro aspecto importante de la vacunación es que la protección conferida por estas vacunas es de corta vida (Darbyshire, 1984; Gough 1979).

Consecuentemente, las ponedoras comerciales, las cuales son mantenidas por más de un año, son vacunadas varias veces con vacuna viva, quizás con más de un serotipo. Aún pollos de engorde, los cuales son procesados a solo 6 semanas de edad, pueden ser revacunados si es muy problemática la situación de la BIA en un área determinada (Cook, 1999).

La eficacia de la vacunación con vacunas vivas varía entre líneas de pollos y afecta la eficacia de la respuesta inmune (Cook, 1986; Otsuki, 1990; Pensaert, 2004).

Las vacunas de BIA inactivadas en emulsión en aceite fueron desarrolladas durante los 1960s y 1970s. El objetivo inicial fue hacer una vacuna que confiriera una inmunidad de larga duración en el ave. Una simple inoculación de estas vacunas no confiere protección a menos que sea precedido por una o más vacunaciones con virus vivo (Manual de la OIE, 2008).

Estudios realizados, usando virus de la BIA inactivado purificado, han resultado exitosos en conferir un grado de protección en el tracto respiratorio, aunque ésta ha sido menor del 59 % (Song, 1998; Ignjatovic 1994; Cavanagh 1986). Una mejor protección con estas vacunas se ha logrado contra la pérdida en la producción de huevos (McDougall 1969).

En cuanto a las vacunas de subunidades, la inducción de inmunidad por la subunidad S1 ha sido estudiada con un preparado de virus purificado (Ignjatovic, 1994) y la expresión usando baculovirus (Song, 1998). Aunque la respuesta inmuno protectora fue inducida, múltiples inoculaciones de material subviral fueron requeridas y el porcentaje de pollos protegidos fue demasiado bajo (menor del 50 %) para aplicación comercial.

De manera general, la protección frente al virus de la BIA es de corta duración y parcialmente exitosa debido a la emergencia continua de nuevos serotipos y a eventos de recombinación entre cepas vacunales y de campo.

Actualmente se abren nuevas perspectivas para el desarrollo de vacunas de la BIA con la existencia de los sistemas de la genética reversa, esto permite modificar el genoma del virus para el desarrollo de vacunas así como para definir los papeles de las proteínas del virus en la patogenicidad, dos áreas de investigación interrelacionadas (Casais, 2005).

## **CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES**

La bronquitis infecciosa aviar es una de las enfermedades más comunes y difíciles de controlar en la avicultura mundial y tiene un impacto económico severo por lo que resulta de gran utilidad estudiar y comprender el agente etiológico, la epidemiología de la enfermedad y otros aspectos de interés

que permitan enfrentar un brote de enfermedad con resultados satisfactorios.

En este trabajo se hizo una revisión actualizada del tema, haciendo énfasis en el diagnóstico y control de la enfermedad con el objetivo de dar a conocer las herramientas que existen para aplicar un buen sistema de vigilancia, basado en el diagnóstico efectivo de la enfermedad.

Recomendamos que los interesados en esta temática lean el artículo pues este material pudiera servir como fuente de estudio para comprender mejor esta enfermedad tan importante en la medicina veterinaria.

## REFERENCIAS

1. Albassam, M.A., Winterfield, R.W. y Thacker, H.L. Comparison of the neuropathogenicity of four strains of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, 1986, vol. 30: p. 468-476.
2. Alexander, D.J. y MSCollins. Effects of pH on the growth and cytopathogenicity of avian infectious bronchitis in chick kidney cells. *Arch. Virol.*, 1975, vol. 49: p. 339-348.
3. Alexander, D.J., Gough, R.E. y Pattison, M. A long-term study of the pathogenesis of infection of fowls with three strains of avian infectious bronchitis virus. *Res. Vet. Sci.*, 1978, vol. 24: p. 228–23.
4. Ambali, A.G., Jones, R.C. Early pathogenesis in chicks of infection with an enterotropic strain of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, 1990, vol. 34:p. 809–817.
5. Bacon, L.D., Hunter, D.B., Zhang, H.M, Hofstad, M.S., Yoder, H.W. Jr. Avian infectious bronchitis – virus distribution in tissues of chicks. *Avian Dis.*, 1966, vol. 10: p. 230– 239.
6. Bhattacharjee, P.S., Naylor, C.J. y Jones, R.C. A simple method for immunofluorescence staining of tracheal organ cultures for the rapid identification of infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.*, 1994, vol. 23: p. 471–480.
7. Boltz, D.A., Nakai, M., Bahra, J.M. Avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster. *Avian Dis.*, 2004, vol. 48: p. 909–915.
8. Breslin, J.J., Smith L.G, Fuller, F.J., Guy, J.S. Sequences analysis of the nucleocapsid gene region of turkey coronavirus. *Intervirology*, 1999. Vol. 42: p. 22-29.
9. Capua, I., Minta, Z., Karpinska, E., Mawditt, K., Britton, P., Cavanagh, D., Gough, R.E. Cocirculation of four types of infectious bronchitis virus (793/B 624/I B1648 and Massachusetts). *Avian Pathol.* , 1999, vol. 28: p. 587–592.
10. Casais, R., Davies, M., Cavanagh, D., Britton, P. Gene 5 of the avian Coronavirus infectious bronchitis virus is not essential for replication. *J.Virol.*, 2005, vol. 79: p. 8065-8078.



11. Cavanagh D., Davis, P.J., Cook, J.K.A., 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 Pathol.*, 1992, vol. 21: p. 33–43.
12. Cavanagh D., Picault J.P., Gough R., Hess M., Mawditt K., Britton P., Variation in the spike protein of the 793/B type of infectious bronchitis virus in the field and during alternate passage in chickens and embryonated eggs, *Avian Pathol.* (2005) 34:20–25.
13. Cavanagh, D y Naqi, SA. Infectious Bronchitis. In *Diseases of Poultry*, 10<sup>th</sup> ed., B.W.Calnek, H.J. Barnes, C.W.. Beard, L.R. Mc.Dougald y Y.M.Sif, ed., Iowa State University Press, Ames,IA, 1997, p. 511-526.
14. Cavanagh, D, Mawditt, D, Sharma, M., Drury, S.E. Detection of a coronavirus from turkey poult in Europe genetically related to infectious bronchitis virus of chickens. *Avian Pathol.*, 2001, vol. 30: p. 355-368.
15. Cavanagh, D. y Naqi S., Infectious bronchitis, in: Saif Y.M., Barnes H.J., Glisson J.R., Fadly A.M., McDougald L.R., Swayne D.E. (Eds.), *Diseases of poultry*, Iowa, 11th edition, Ames, Iowa State University Press, 2003: p. 101–119.
16. Cavanagh, D. Coronaviridae: a review of coronaviruses and toroviruses, in: Schmidt A., Wol. M.H. (Eds.), *Coronaviruses with special emphasis on first insights concerning SARS. Basel, Birkhäuser*, 2005, p. 1–54.
17. Cavanagh, D. Coronaviruses in poultry and other birds. Review. *Avian Pathology*, 2005, vol. 34, n<sup>o</sup>. 6: p. 439-448.
18. Cavanagh, D. Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. *Avian Pathol.* 2003, vol.32: p. 567–582.
19. Cavanagh, D. y Davis, P.J. Coronavirus IBV: removal of spike glycopolyptide S1 urea abolishes infectivity and haemagglutination but not attachment to cells. *J. Gen. Virol.*, 1986, vol.67: p. 1443-1448.
20. Cavanagh, D., Davis, P.J. y Cook, J.K.A. Infectious bronchitis virus: evidence for recombination within the Massachusetts serotype. *Avian Pathol.*, 1992, vol. 21: p. 401–408.
21. Cavanagh, D., Davis, P.J., Darbyshire, J.H., Peters, R.W. Coronavirus IBV: virus retaining spike glycopolyptide S2 but not S1 is unable to induce virus-neutralizing or haemagglutination-inhibiting antibody or induce chicken tracheal protection. *J. Gen. Virol.* 1986, vol. 67: p. 1435–1442.
22. Cavanagh, D., Ellis, M.M., Cook, J.K.A. Relationship between sequence variation in the S1 spike protein of infectious bronchitis virus and the extent of cross-protection in vivo. *Avian Pathol.*, 1997, vol. 26: p. 63–74.
23. Cavanagh, D., Mawditt, K., Britton, P, Naylor, C.J. Longitudinal field studies of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus in broilers

- using type-specific polymerase chain reactions. *Avian Pathol.*,1999, vol.. 28: p. 593–605.
24. Clarke, J.K., McFerran, J.B. y Gay, F.W. Use of allantoic cells for the detection of avian infectious bronchitis virus. *Arch. Gesamte Virusforsch.*, 1972, vol. 36: p. 62–70.
  25. Cook, J., Smith, H.W., Huggings, M.B. Infectious bronchitis immunity: Its study in chickens experimentally infected with mixtures of infectious bronchitis virus and *Escherichia coli*. *J. Gen Virol.*, 1986, vol. 67: p. 1427-1434.
  26. Cook, J.K. y Huggins, MB. Newly isolated serotypes of infectious bronchitis virus: Their role in disease. *Avian Pathol.*, 1986, vol. 15: p.129-138.
  27. Cook, J.K., 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 Pathol.*, 2001, vol. 30: p. 423–426.
  28. Cook, J.K.A., Orbell, S.J., Woods, M.A., Huggins, M.B. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different liveattenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous types. *Avian Pathol.*, 1999, vol. 28: p. 471–479.
  29. Cowen, B.S. y Hitchner, S.B. pH stability studies with avian infectious bronchitis virus (Coronavirus) strains. *J. Virol.*,1975, vol. 15: p. 430-432.
  30. Csermelyi, M., Thijssen, R., Orthel, F.,Burger, A.G., Kouwenhoven, B. y Lutticken, D. Serological classification of recent infectious bronchitis virus isolates by the neutralisation of immunofluorescent foci. *Avian Pathol.*, 1988, vol.17: p. 139–148.
  31. Cuello, S. Bronquitis infecciosa aviar. Cinética de anticuerpos post-vacunales en reproductoras y su transferencia a la progenie. *Rev. Salud Animal*, 2003, vol. 25, n° 3.
  32. Cumming, R.B. Infectious avian nephrosis (uraemia) in Australia. *Aust. Vet. J.*, 1963, vol. 39: p.145-147.
  33. Darbyshire, J.H., Peters, R.W. Sequential development of humoral immunity and assessment of protection in chickens following vaccination and challenge with avian infectious bronchitis virus. *Res. Vet. Sci.*, 1984, vol. p. 37:77–86.
  34. Darbyshire, J.H., Rowell, R.G., Cook, J.K.A. y Peters, R.W. Taxonomic studies on strains of avian infectious bronchitis virus using neutralisation tests in tracheal organ cultures. *Arch. Virol.*, 1974, vol.. 61: p. 227–238.
  35. Dawson, P.S. y Gough, R.E. Antigenic variation in strains of avian infectious bronchitis virus. *Arch.Gesamte Virusforsch.*, 1971, vol. 34: p. 32–39.
  36. De Wit, J.J. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.*, 2000, vol. 29: p. 71–93

37. Dhinaker, R.G., Jones, R.C. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken, *Avian Pathol.*, 1997, vol. 26: p. 677–706.
38. Farsang, A., Ros, C., Renström, L.H.M., Baule, C., Soós, T., S. Molecular epizootiology of infectious bronchitis virus in Sweden indicating the involvement of a vaccine strain. *Avian Pathol.*, 2002, vol. 31: p. 229–236.
39. Gelb, J., Keeler, C.L., Nix, W.A., Rosenberger, J.K., Cloud, S.S. Antigenic and S-1 genomic characterization of the Delaware variant serotype of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, 1997, vol. 41: p. 661–669.
40. Gelb, J., Weisman, Jr., Ladman, Y, Meir, R. S1 gene characteristics and efficacy of vaccination against infectious bronchitis virus field isolates from the United States and Israel (1996 to 2000). *Avian Pathology*, 2005, vol. 34: p. 199-203.
41. Gough, R.E., Alexander, D.J. Comparison of duration of immunity in chickens infected with a live infectious bronchitis vaccine by three different routes. *Res. Vet. Sci.*, 1979, vol. 26: p. 329–332.
42. Guilarte, O. Identificación de los niveles de anticuerpos contra el virus de la bronquitis infecciosa y el virus de Newcastle en aves afectadas con la enfermedad respiratoria crónica. *Rev. Cub. Ciencias Avícola*, 1985, vol. 12: p.15-26.
43. Guy, J.S., Smith, L.G., Breslin, J.J., Pakpinyo, S. Development of competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of turkey coronavirus antibodies. *Avian Dis.*, 2002. vol. 46: p. 334-341.
44. Hopkins, S.R. Serological comparisons of strains of infectious bronchitis virus using plaque purified isolates. *Avian Dis.*, 1979, vol. 18: p. 231–239.
45. Ignjatovic, J., Galli, L. The S1 glycoprotein but not the N or M proteins of avian infectious bronchitis virus induces protection in vaccinated chickens. *Arch. Virol.*, 1994, vol. 138: p. 117–134.
46. Jackwood, M.W., Kwon, H.M. y Hilt, D.A. Infectious bronchitis virus detection in allantoic fluid using the polymerase chain reaction and a DNA probe. *Avian Dis.*, 1992, vol. 36: p. 403–409.
47. Jackwood, M.W., Yousef, N.M. y Hilt, D.A. Further development and use of a molecular serotype identification test for infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, 1997, vol. 41: p. 105–110.
48. Jackwood, W., Hilt, D. A. Callison, S. A. Detection of Infectious Bronchitis Virus by Real-Time Reverse Transcriptase–Polymerase Chain Reaction and Identification of a Quasispecies in the Beaudette Strain. *Avian Dis.*, 2003, vol. 47, n° 3: p. 718-724.
49. Jia, W., Karaca, K., Parrish, C.R. y Naqi, S.A. A novel variant of avian infectious bronchitis virus resulting from recombination among three different strains. *Archives of Virology*, 1995, vol. 140: p. 259-271.

50. Kant, A., Koch, G., van Roozelaar, D., Kusters, J.G., Poelwijk, F.A.J., van der Zeijst, B.A.M. Location of antigenic sites defined by neutralising monoclonal antibodies on the S1 avian infectious bronchitis virus glycopolyptide. *J. Gen. Virol.*, 1992, vol. 73: p. 591–596.
51. King, D.J. Observations on the preparation and stability of infectious bronchitis virus hemagglutination antigen from virus propagated in chicken embryos and chicken kidney cell cultures. *Avian Dis.*, 1984, vol. 28: p. 504-513.
52. King, D.J. y Hopkins, S.R. Rapid serotyping of infectious bronchitis virus isolates with the haemagglutination inhibition test. *Avian Dis.*, 1984, vol. 28: p. 727–733.
53. Koch, G., Hartog L., Kant, A., Van Roozelaar, D. y De Boer, G.F. Antigenic differentiation of avian bronchitis virus variant strains employing monoclonal antibodies. *Israel J. Vet. Med.*, 1986, vol. 42: p. 80–97.
54. Kuo, L., Godeke, G.J., Raamsman, M. Masters, P.S., Rottier, P.J. Retargeting of coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain: crossing the host cell species barrier. *J. Virol.*, 2000, vol. 74: p. 1393–1406.
55. Kwon, H.M, Jackwood, M.W. y Gelb, J, Jr. Differentiation of infectious bronchitis virus serotypes using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *Avian Dis.*, 1993, vol. 37: p. 194-202.
56. Lai, M.M. y Cavanagh, D. The molecular biology of coronavirus. *Advances in Virus Research*, 1997, vol. 48: p. 1-100.
57. Lambrechts, C., Pensaert, M., Ducatelle, R. Challenge experiments to evaluate crossprotection induced at the trachea and kidney level by vaccine strains and Belgian nephropathogenic isolates of avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.*, 1993, vol. 22: p. 577–590.
58. Lee, C.W., Hilt, D.A. y Jackwood, W. Identification and analysis of the Georgia 98 serotype, a new serotype of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, 2001, vol. 45: p. 164-172.
59. Li, H., Yang, H.C. Sequence analysis of nephropathogenic infectious bronchitis virus strains of the Massachusetts genotype in Beijing. *Avian Pathol.*, 2001, vol. 30: p. 535–541.
60. Liu, S.W., Kong, X.G. A new genotype of nephropathogenic infectious bronchitis virus circulating in vaccinated and nonvaccinated flocks in China. *Avian Pathol.* 2004, vol. 33: p. 321–327.
61. Mardani, K., Noormohammadi, A.H., Ignjatovic, J., Browning, G.F. Typing infectious bronchitis virus strains using reverse transcriptase-polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis to compare the 3' 7.5 kb of their genomes. *Avian Pathol.*, 2006, vol. 35: p. 63–69.
62. Martins, N.R., Mockett, A.P., Barrett, A.D., Cook, J.K. IgM responses in chicken serum to live and inactivated infectious bronchitis virus vaccines. *Avian Dis.*, 1991, vol. 35: p. 470–475.

63. Meulemans, G., Boschmans, M., Decaesstecker, M., van den, Berg T.P., Denis, P., Cavanagh, D. Epidemiology of infectious bronchitis virus in Belgian broilers: a retrospective study 1986 to 1995. *Avian Pathol.*, 2001, vol. 30: p. 411–421.
64. Naqi S., Thompson, G., Rauman, R. y Mohammed, H. The exacerbating effect of infectious bronchitis virus infection on the infectious bursal disease virus induced suppression of opsonization by *Escherichia coli* antibody in chickens. *Avian Dis.*, 2001, vol. 45: p. 52-62.
65. Naqi, I S.A. A monoclonal antibody-based immunoperoxidase procedure for rapid detection of infectious bronchitis virus in infected tissues. *Avian Dis.*, 1990, vol. 34: p. 893–898.
66. Nix, W.A., Troeber, D.S., Kingham, B.F., Keeler, C.L. Jr., Gelb, J. Jr. Emergence of subtype strains of the Arkansas serotype of infectious bronchitis virus in Delmarva
67. Noda, J. Obtención de un antígeno de BIA y detección de anticuerpos por la IHA. *Rev. Cub. de Ciencia Avícola*, 2004, vol. 28, nº 2.
68. OIE Terrestrial Manual. Avian infectious bronchitis, 2008. Chapter 2.3.2.
69. Otsuki, K., Huggins, M.B., Cook, J.K.A. Comparison of the susceptibility to infectious bronchitis virus infection of two inbred lines of White Leghorn chickens. *Avian Pathol.*, 1990, vol. 19: p. 467–475.
70. Otsuki, K., Nakamura, T., Kubota, N., Kawaoka, Y., Tsubokura, M. Comparison of two strains of avian infectious bronchitis virus for their interferon induction viral growth and development of virusneutralising antibody in experimentallyinfected chickens. *Vet. Microbiol.*, 1987, vol. 15: p. 31–40.
71. Otsuki, K., Yamamoto, H y Tsubokura, M. Studies on avian infectious bronchitis virus (IBV) I. Resistance of IBV to chemical and physical treatments. *Arch. Virol.*, 1979, vol. 60: p. 25-32.
72. Pei, J., Sekellick, M.J., Marcus, P.I., Choi, I.S., Collisson, E.W. Chicken interferon type I inhibits infectious bronchitis virus replication and associated respiratory illness. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2001, vol. 21: p. 1071–1077.
73. Pennycott, T.W. Causes of mortality and culling in adult pheasants. *Veterinary Record*, 2000, vol. 146: p. 273-278.
74. Pensaert, M., Lambrechts, C. Vaccination of chickens against a Belgian nephropathogenic strain of infectious bronchitis virus B1648 using attenuated homologous and heterologous strains. *Avian Pathol.*, 1994, vol. 23: p. 631–641.
75. Picault, J.P., Drouin, P., Guittet, M., Bennejean, G., Protais, J., L'Hospitalier, R., Gillet, J.P., Lamande, J., Le Bachelier, A. Isolation characterisation and preliminary cross-protection studies with a new pathogenic avian infectious bronchitis virus (strain PL-84084). *Avian Pathol.*, 1986, vol. 15: p.367–383.

76. Raggi, L.G., Lee, G.G. Lack of correlation between infectivity serological response and challenge results in immunization with an avian infectious bronchitis vaccine. *J. Immunol.*, 1965, vol. 94: p. 538–543.
77. Sánchez, B., Redondo, H., Brandy, L., Martínez, A y Rodríguez, M. J.. Detección de serotipos del virus de la bronquitis infecciosa vacunales (MA5, 4-91 y H120) y variantes de campo (ITALY- 02) por PCR a tiempo real sobre el gen S1 LII Symposium Científico de Avicultura. *Sección Española de la Asociación Mundial de Avicultura Científica • AECA* 149. 2005.
78. Schalk, A. F. Y MC Hawn. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1931, vol. 78: p. 413-422.
79. Seo, S.H., Collisson, E.W. Specific cytotoxic T lymphocytes are involved in in vivo clearance of infectious bronchitis virus. *J. Virol.*, 1997, vol. 71: p. 5173–5177.
80. Shi, Q, Wang, C. y Keirs, R.W. Genetic relationship of infectious bronchitis virus isolates from Mississippi broilers. *Avian Dis.*, 2000, vol. 44: p. 66-73.
81. Song, C.S., Lee, Y.J., Kim, J.H., Sung, H.W., Lee, C.W., Izumiya, Y, Miyazawa, T, Jang, H.K., Mikami, T. Epidemiological classification of infectious bronchitis virus isolated in Korea between 1986 and 1997. *Avian Pathology*, 1998, vol. 27: p. 409-416.
82. Song, C.S., Lee, Y.J., Lee, C.W., Sung, H.W., Kim, J.H., Mo, I.P., Izumiya, Y., Jang, H.K., Mikami, T. Induction of protective immunity in chickens vaccinated with infectious bronchitis virus S1 glycoprotein expressed by a recombinant baculovirus, *J. Gen. Virol.*, 1998, vol. p. 79:719–723.
83. Spackman, D. y Cameron, I.R. Isolation of infectious bronchitis virus from pheasants. *Veterinary Record*, 1983, vol.113: p. 354-355.
84. Vandekerchove, D., De Herdt P., Laevens, H., Butaye, P., Meulemans, G., Pasmans, F. Significance of interactions between *Escherichia coli* and respiratory pathogens in layer hen flocks suffering from colibacillosis-associated mortality, *Avian Pathol.*, 2004, vol. 33: p. 298–302.
85. Wang, H.N., Wu, Q.Z., Huang, Y y Liu, P. Isolation and identification of infectious bronchitis virus from chickens in Sicuani, China. *Avian Dis.*, 1997, vol. 41: p. 279-282.
86. Wang, X, Khan, M.I.. Use of reverse transcriptase-polymerase chain reaction –restriction fragment length polymorphism to examine the interaction between infectious bronchitis virus strains Massachusetts 41 and JMK in ovo. *Avian Pathology*, 2000, vol. 29: p. 441-448.
87. Weissman, Y., Aronovici, A., Malkinson, M. Prevalence of IBV antibodies in turkey breeding flocks in Israel. *Veterinary Record*, 1987, vol. 120: p. 94.
88. World Animal Health Information Database (WAHID) - Version: 1.2, Copyright © World Organisation for Animal Health (OIE) 2009,

[http://www.oie.int/fichiers/wahis/public/disease\\_status\\_detail.inc](http://www.oie.int/fichiers/wahis/public/disease_status_detail.inc).  
[Consulta: Marzo 26 2009].

89. Zanella, A., Lavazza, A., Marchi, R., Moreno Martín, A. y Paganelli, F. Avian infectious bronchitis: characterization of new isolate from Italy. *Avian Dis.*, 2003, vol. 47: p. 18

**REDVET: 2010, Vol. 11 N° 03**

Recibido: 08.06.09 - Ref. prov. JUL0901B - Revisado: 06.12.09 - Aceptado: 05.02.2010  
Ref. def. 031025\_RED VET - Publicado: 01.03.2010

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031025.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.  
Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET®  
- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>