

EPIDEMIOLOGIA DA LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA DAS AVES

Profa. Dra. Masaio Mizuno Ishizuka

Profa. Titular Senior de Epidemiologia das Doenças Infecciosas

2024

1. CONCEITUAÇÃO:

A Laringotraqueíte Infecciosa das Aves (LTI) é uma doença respiratória viral altamente contagiosa, causada por um alfa herpesvírus que acomete principalmente galinhas embora possa infectar faisão, perdiz e pavão (OIE, 2000 e BAGUST et al, 2000). É uma doença de notificação obrigatória a OMSA/OIE (pertencente à antiga lista B) e, portanto, sua suspeita deve ser obrigatoriamente notificada ao serviço oficial de defesa sanitária animal local, no território brasileiro é ao Órgão Oficial Estadual de Defesa Sanitária Animal que possui escritórios locais.

2. HISTÓRICO:

Embora existam indícios de ocorrência anterior a 1925 (BEACH, 1930 e HINSHAW et al, 1931), foi descrita pela 1ª vez em 1925 (MAY & TITSLER) nos USA, a denominação "Laringotraqueíte Infecciosa" foi conferida por GRAHAM et al (1931) a adotada a partir de 1931 pelo Comitê Especial de Doenças das Aves da Associação Americana de Medicina Veterinária, pois anteriormente era conhecida como "bronquite infecciosa", "laringotraqueíte", "difteria aviária" e "brônco pneumonia".

3. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E OCORRÊNCIA:

Doença de distribuição geográfica cosmopolita e de ocorrência cíclica em áreas endêmicas, principalmente em áreas de alta densidade de produção (BIGGS, 1982). Comprovada sua ocorrência em diversas partes dos USA, Holanda, França, Alemanha, Austrália, Inglaterra, Suécia, Hungria, Polônia, África do Sul, Índia, União Soviética (SCHMIDT, 1988).

No Brasil na década de 1970 o vírus da LTI (VLTI) foi isolado pela primeira vez de galinhas manifestando doença respiratória e com diagnóstico de doença de Newcastle (HIPÓLITO et al, 1974; SOARES, 1977). O vírus isolado (amostra LT 1543) a partir de pintos de corte com manifestação sub-clínica foi caracterizado por baixa patogenicidade e baixa virulência (SOARES, 1977; SOARES, PEREIRA & HIPÓLITO, 1980). O primeiro caso de LTI na forma epidêmica severa foi diagnosticado no Rio de Janeiro em 1981 e em julho de 1982 tendo sido acometidas galinhas poedeiras comerciais de 10 meses de idade que manifestaram queda de produção de ovos (6%) e mortalidade de 5,5% (ARAÚJO et al, 1982a,b). Baseado em estudo sorológico, VARGAS (1995) caracterizou LTI subclínica em frangos de corte e poedeiras comerciais do Rio Grande do Sul e aventou a possibilidade de estar sendo sub-diagnosticada em todo o país distribuição em decorrência do amplo estudo sobre distribuição espacial, temporal, grupo etário e natureza da exploração econômica. Recentemente o VLTI foi detectado em poedeiras comerciais (BELTRÃO et al, 2002; ITO et al, 2003.) e em frangos de corte (BELTRÃO et

al, 2004). Segundo ITO et al (2003), a LTI pode estar sendo sub-diagnosticada no país por inúmeras razões destacando o excessivo direcionamento ao diagnóstico clínico tradicional das doenças respiratórias aviárias e à carência de conhecimentos sobre as diversas formas de manifestação clínica, diagnóstico epidemiológico e relação hospedeiro x parasita (VLTII). No estado de São Paulo/Brasil, surtos de LTI ocorreram em 2002 e 2009 devidamente comunicados ao Serviço estadual de Defesa Sanitária Animal que delineou o programa de controle, executou as fases preparatórias e de ataque e o surto de 2002 encontra-se na fase de Vigilância Epidemiológica para manutenção dos resultados obtidos.

4. **HOSPEDEIROS:**

Galinhas são os hospedeiros naturais primários e infectam de forma natural e preferencial galinhas, faisões e perdiz (MCKERCHER, 1973).

5. **IMPORTÂNCIA ECONÔMICA, DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E OCORRÊNCIA:**

Decorrente das perdas devido à mortalidade e/ou diminuição da postura. Na forma moderada, a queda na postura varia de 5-15% sem alteração das características da casca do ovo e na forma severa, a mortalidade varia de 10-20% podendo atingir 50-70%.

Foi descrita em muitos países e permanece sendo uma importante patologia quando ocorre com caráter epidêmico (BAGUST & GUY, 1997; GUY & GARCIA, 2008). As perdas são também decorrentes da intercorrência de vários fatores causais e os grandes desastres em áreas de alta produção tem sido causada pela disseminação de vírus de campo e de vírus vacinal. Um surto dura de 2-6 semanas para em seguida silenciar. Severas epidemias são caracterizadas por depressão respiratória, respiração ofegante, expectoração com eliminação de muco sanguinolento e alta mortalidade. Forma endêmica moderada está aumentando em frequência em áreas de avicultura industrial desenvolvida caracterizada por manifestação clínica de traqueíte mucóide, sinusite, conjuntivite, perdas econômicas generalizadas e baixa mortalidade. A doença tem sido bem controlada pelo emprego de vacinas vivas atenuadas em galinhas de postura. Sendo dispensável em frangos de corte em razão do curto ciclo de vida (GUY & GARCIA, 2008). No passado ocorriam epidemias com severas manifestações clínicas e atualmente, o quadro tem sido mais suave como descrito ns Europa, Austrália, Nova Zelândia e EUA (COVER & BENTON, 1958; LINARES et al, 1994; PULSFORD & STOKES, 1953; SEDDON & HART, 1935; SELLERS et al, 2004; WEBSTER, 1959).

Não apresenta evidência de transmissão ao homem e a outros mamíferos.

6. **AGENTE ETIOLÓGICO:**

- a. **Classificação:** vírus membro do gênero Iltovirus, família Herpesviridae e subfamília Alfaherpesvínae que reúne a maioria das características dos vírus do gênero Herpes i.é. DNA, esférico, envelopado e sensível ao éter (JONES, 1990) e com bem capacidade de formação de corpúsculo intranuclear e

disseminação de uma célula para outra tal qual o vírus do herpes simples humano (FITZGERALD & HANSON, 1963). É capaz de permanecer latente por toda vida em aves portadoras (JORDAN, 1993). É um vírus pneumotrópico.

- b. **Classificação ou tipos de estirpes:** segundo a virulência para galinhas e embrião de galinha, tamanho de placa e morfologia na membrana corioalantoide de embrião de pinto (COVER & BENTON, 1958; JORDAN, 1966; PULSFORD, 1953; PULSFORD & STOKES, 1953; IZUCHI & HASEGAWA, 1982)
 - b₁. **Estirpe de baixas patogenicidade e virulência:** determina infecção de moderada a inaparente (COVER & BENTON, 1958; JORDAN, 1966; PULSFORD, 1953; PULSFORD & STOKES, 1953) e com baixa mortalidade. Mais freqüente.
 - b₂. **Estirpe de alta patogenicidade e virulência:** determina altas morbidade e mortalidade. Apresenta ocorrência menos freqüente (GUY & GARCIA, 2008).
- c. **Replicação viral:** assemelha-se a dos demais alfa herpesvírus como os vírus da pseudorraiva (doença de Aujeszky) e herpes simples (GUO et al, 1993; PRIDEAUX et al, 1992; ROIZMAN & SEARS, 1990). A infecção tem início pela fixação às células dos receptores pela fusão do envelope viral com a membrana plasmática das células do hospedeiro. O nucleocapsídeo é liberado no citoplasma e transportado para a membrana do núcleo, DNA viral é liberado do nucleocapsídeo e migra para o núcleo através de poros nucleares. Transcrição e replicação do DNA viral ocorrem no interior do núcleo. Segue-se a produção de proteínas que codificam o vírus, muitas são enzimas e proteínas que se ligam ao DNA que regulam a replicação do DNA viral e são, na sua maioria, proteínas estruturais. Durante a replicação viral formam-se concatêmeros (BEN-PORAT & TOKAZEWSKI, 1977). Os DNA concatêmeros são clivados em unidades monoméricas que são reunidos em nucleocapsídeos pré-formados no interior de núcleos e adquirem o envelope quando da migração através da membrana nuclear; partículas envelopadas migram através do retículo endoplasmático e acumulam-se em vacúolos no citoplasma (GUO et al, 1993). Virions envelopados são liberados por lise celular ou por fusão da membrana vacuolar e exocitose (GUY & GARCIA, 2008)
- d. **Antigenicidade:** as diferentes estirpes parecem apresentar homogeneidade antigênica quando avaliada pelas provas de SN, IFI e proteção cruzada (COVER & BENTON, 1958 e SHIBLEY et al, 1962), porém variação mínima entre estirpes tem sido aventada em decorrência de evidências de fraca neutralização diante de soros heterólogos (PULSFORD & STOKES, 1953; RUSSEL & TURNER, 1983 e SHIBLEY et al, 1962).
- e. **Diferenciação de estirpes de VLT1 e classificação molecular:** os primeiros estudos foram de avaliação de padrão de mortalidade em ovos embrionados de galinha foi proposto como sistema biológico de

diferenciação de estirpes (IZUCHI & HASEGAWA, 1982) e padrão de mortalidade em aves.

A diferenciação molecular de diferentes estirpes, particularmente as de origem de campo e de vacina é um aspecto importante a ser considerado. Muitos métodos de diferenciação têm sido estudados incluindo análise de virulência para embrião de pinto (IZUCHI & HASEGAWA, 1982) como a análise de DNA viral por restrição de endonuclease (GUY et al, 1989; KOTIW et al, 1982 e LIEB et al, 1987; HAN & KIM, 2001), ensaio de hibridização de DNA (KOTIW et al, 1986), reação de cadeia de polimerase (PCR) combinado com análise de restrição de polimorfismo de comprimento de fragmento (RFLP) que analisa o DNA amplificado (PCR-RFLP) (CHANG et al, 1987; CLAVIJO & NAGY, 1997; GRAHAN et al, 2000; GARCIA & RIBLET, 2001; HAN & KIM, 2001, CREELAN et al, 2006; KIRKPATRICK et al, 2006), PCR-RFLP combinado a com sequenciamento de gen (HAN & KIM, 2003) ou sequenciamento de gen apenas (OJKIC et al, 2006). É possível distinguir diferentes estirpes de VLTl através Restrição de clivagem de endonuclease do DNA viral e separação eletroforética de fragmentos de DNA (KOTIW, 1982; LIEB et al, 1986). Análise de restrição de endonuclease tem sido extensivamente utilizado em estudos epidemiológicos de surtos no campo para diferenciar vírus de vacina viva modificada dos vírus de campo (ANDREASEN et al, 1990; GUY et al, 1989; HAN & KIM, 2001; KEELER et al, 1992; KEELER et al, 1993). Hibridização recíproca de DNA:DNA usando fragmentos clonados de DNA tem também sido indicado para discriminar estirpes (KOTIW et al, 1986), porém merecendo estudos mais aprofundados.

Recentes avanços em nosso entendimento a respeito do genoma do VLTl baseados em estudos de sequência de nucleotídeos, e a composição do genoma completo baseada nas sequências publicadas (THUREE & KEELER Jr, 2006) tem oferecido as bases para diferenciação de estirpes utilizando diferenças genéticas identificadas pelo PCR-RFLP e/ou sequenciamento de gen. Muitos procedimentos de PCR-RFLP têm sido descritos para diferenciar estirpes de origem vacinal e não vacinal (CHANG et al, 1997; CLAVIJO & NAGY, 1997; CREELAN et al, 2006; GRAHAN et al, 2000; GARCIA & RIBLET, 2001; HAN & KIM, 2003)

Análise por PCR-RFLP de gene de proteína 4 de células infectadas (ICP4) tem se mostrado capaz de discriminar isolados de vacina e de campo de Taiwan (CHANG et al, 1997) e da Irlanda do Norte (GRAHAN et al, 2000). Nestas 2 pesquisas, vírus relacionados com surtos isolados antes da introdução de vacina viva modificada foram identificadas como vírus não vacinal, e vírus isolados depois da introdução da vacina foram identificados como responsáveis pelos surtos. Utilizando sítio de polimorfismo de nucleotídeo simples anteriormente identificado no gene ICP4 (GRAHAN et al, 2000), a prova de PCR-RFLP permitiu a detecção e diferenciação de vírus vacinal e não vacinal de casos de campo no Reino Unido (CREELAN et al, 2006). Em outro estudo, combinando PCR-RFLP com análise de

sequência de nucleotídeo da glicoproteína G (IgG) e gene de timidina quinase (TK) permitiu a diferenciação vírus vacinal e não vacinal na Coreia (HAN & KIM, 2001) e a análise de ambos os genes permitiu a identificação de um isolado viral que pode ter sido originado da combinação de vírus vacinal e não vacinal. KIRKPATRICK et al (2006) utilizou PCR-RFLP para diferenciar os diferentes isolados na Austrália. Demonstrou que diferenciação confiável de estirpes de VLT1 requer o exame de múltiplos genes (gG, TK, ICP4, ICP18.5,) e que os mais recentes surtos na Austrália não foram causados por estirpes vacinais (KIRKPATRICK et al, 2006).

Análise de sequência de nucleotídeos dos genes UL47 e gG permitiram a identificação de vírus vacinal e não vacinal em surtos ocorridos em Ontário (OJOKIC et al, 2006).

No surto ocorrido no Brasil, região de Baurópolis no estado de São Paulo, o vírus causal foi estudado e confirmado pela prova de PCR tendo sido evidenciada homologia de fragmento com o gen p32 (VILLARREAL et al, 2004).

f. **Características do agente etiológico de importância epidemiológica:**

f₁. Infectividade: em condição natural, infecta preferencialmente galinhas, perus, faisões e o *peafowl* e no organismo da ave infectada instala-se nas células dos tecidos da traquéia e pulmões como avaliado experimentalmente por inoculação na membrana corioalantoide de ovos embrionados e nas aves infectadas os corpúsculos foram demonstrados nas primeiras 24 horas decorridas da inoculação (PURCELL, 1971 e HAYASHI et al, 1985) ou somente após 2-5 dias da inoculação (COVER & BENTON, 1958).

f₂. Patogenicidade: frequência de ocorrência de casos de doentes varia com a estirpe de vírus e da porta de entrada no organismo do susceptível (CURTIS & WALLS, 1983 e HITCHNER et al, 1977). O vírus é pneumotrópico e algumas estirpes podem causar doença quando inoculada pela cloaca ou no folículo da pena (PULSFORD, 1963). Morbidade elevada (90-100%) ou moderada (15%) ou baixa (10-15%).

Reversão de patogenicidade: vírus de vacinas obtidas a partir de embrião de galinha reverterem sua patogenicidade. Por exemplo, vírus atenuado em 20 passagens pode reverter a patogenicidade após 10 passagens em aves susceptíveis.

f₃. Virulência: existem pelo menos 2 estirpes de vírus que causam doença aguda e subaguda e que não são distinguíveis por provas sorológicas como a SN (HANSON, 1991) e que podem ser reveladas por provas de análise de DNA com restrição de endonuclease (KOTIWI ET AL, 1982). Mortalidade variável (10-20%) ou moderada ou baixa de até 2% (SCHMIDT, 1988 e MEULEMANS, 1984).

Assim, relativamente à patogenicidade e virulência das estirpes de ocorrência natural variam relativamente à morbidade e mortalidade são

elevadas em casos de doença causada por estirpe de altas patogenicidade e virulência e são baixas quando de surtos causados por estirpe de baixas patogenicidade e virulência (COVER & BENTON, 1958; JORDAN, 1966; PULSFORD, 1963; PULSFORD & STOKER, 1953; SELLERS et al, 2004; TIMURKAAN, 2003).

Epidemias severas da doença causam morbidade variando de 90-100% e mortalidade oscilando entre 5-70% (média de 10-20%) (BEACH, 1926; HINSHAW, 1936; SEDDON & HART, 1935)

f4. Resistência e sensibilidade frente aos agentes físicos e químicos:

Resistência: mantém a infectividade por muitos meses quando armazenados a 4° C e em diluentes apropriados como glicerina ou meios nutrientes. Pode sobreviver por 10 dias a temperatura entre 13-23° C (HANSON, 1991), por 217 dias entre 4-10° C e 661 dias quando dessecado (MERCHANT & PACKER, 1970). Pode permanecer viável por várias semanas na cama ou nos dejetos ou em carcaças podem sobreviver por muitas semanas.

Sensibilidade: sensível aos agentes lipolíticos como clorofórmio e éter (FITZGERALD & HANSON, 1963; MEULEMANS & HALEN, 1978). É rapidamente destruído a 55° C em 15 min, ou a 38° C em 48 h (JORDAN, 1966). Os dados sobre sobrevivência do vírus da LTI em tecido traqueal ou em carcaças de frango variam muito de acordo com o pesquisador e estirpe viral estudado, por exemplo, sobreviveria por 10-100 dias a temperatura ambiente nesses materiais (COVER & BENTON, 1958). Assim, a luz solar direta destrói o vírus em poucas horas (JORDAN, 1993). Destruído por substâncias lipolíticas (clorofórmio e éter) e desinfetantes comuns como fenol (5%), cresol (3%), formalina, hipocloritos e iodoform (HANSON, 1991). Segundo NEIGHBOUR et al (1994), solução a 3% de cresol ou 1% de detergente (lixívia) é capaz de inativar o vírus em menos de 1 min; bancadas de laboratórios podem ser facilmente descontaminados com iodoform comercial ou com mistura de detergentes halogênicos; nebulização (micropartículas) de peróxido de hidrogênio ou fumigação com névoa de per[óxido de hidrogênio a 5% para desinfecção de equipamentos de granjas avícolas.

f5. Imunogenicidade: o vírus é capaz de despertar resposta imune que pode ser medida por diferentes provas. Estirpes de baixa virulência parece ser fracamente neutralizada por Ac (ROBERTSON, 1977 e ROBERTSON & EGERTON, 1981). Anticorpos IgM foram detectados em lavados de traquéia a partir do 6° dia da infecção experimental e Ac séricos não foram detectados até os 14 dias da inoculação. Nas aves vacinadas, Ac específicos séricos foram detectados entre 5-7 dias da vacinação e não eram IgA.

f6. Persistência: o padrão mais importante de persistência é a instalação da condição de latência (recurso de que se vale o vírus para persistir na natureza infectando o mesmo hospedeiro) cuja freqüência em aves presentes na área de foco e clinicamente sadias reduz paulatinamente e os experimentos revelam que após 16 meses do início do surto cerca de 2% das aves ainda apresentam vírus na mucosa da traquéia e laringe após uma epidemia (KOMAROV & BEAUDETTE, 1932 e GIBBS, 1933). Latência também foi mais recentemente demonstrada com a estirpe australiana de campo e estirpe vacinal em 50% das aves estudadas (BAGUST, 1986 e TURNER, 1972) bem como com uma estirpe moderadamente virulenta e outra vacinal com eliminação intermitente e espontânea do VLTI entre 7-20 semanas da infecção (HUGHES et al, 1987 e 1991). A latência é interrompida por fatores de estresse como mudança de instalação e início da reprodução. Fator que tem facilitado a persistência do vírus em populações de aves tem sido a biossegurança questionável (principalmente movimento indisciplinado de pessoal, não disposição de cadáveres e de dejetos de aves e uso de equipamentos e objetos em comum entre propriedades), falta de notificação e a complacência dos criadores em manter a permanência do vírus em suas criações.

7. **PATOGENIA:**

Em condições naturais o vírus penetra no hospedeiro susceptível pelas vias aéreas superiores (HANSON, 1984), multiplicando-se inicialmente nas células da traquéia (CHANG & YATES, 1973) com isolamento do vírus a partir de pulmões. A replicação parece ser similar aos demais herpesvirus como da Doença de Aujeszky e herpes simples humano (PRIDEAUX et al, 1992; GUO et al, 1993 e ROIZMAN, 1982) que se inicia com a aderência na membrana plasmática das células receptoras. O nucleocapsídeo é liberado no citoplasma e transportado para junto da membrana nuclear. A transcrição e replicação do DNA viral ocorrem no núcleo. A replicação viral está restrita aos tecidos do aparelho respiratório com pouca ou nenhuma evidência de viremia. Disseminação extratraqueal do VLTI para os gânglios trigêmeos foi detectado 4-7 dias após infecção (BAGUST et al, 1986) em 40% dos pinos expostos à estirpe australiana. O vírus é altamente citolítico particularmente para células da traqueia resultando em severas lesões e hemorragia.

Estudos têm revelado que o vírus está presente no tecido e secreção traqueal depois de 6-8 dias da infecção

Lesões macroscópicas: observadas na conjuntiva e ao longo do trato respiratório e mais consistentemente na laringe e traquéia com alterações fissulares moderadas apenas com excesso de muco (LINARES et al, 1994) ou severas com hemorragia ou alterações diftéricas. As lesões são mais consistentes na laringe e traquéia.

- a1. Forma moderada:** conjuntivite, sinusite e traqueíte mucóide (DAVIDSON et al, 1988 e LINARES et al, 1994) e em outras circunstâncias congestão de conjuntiva e sinus infraorbitários podem ser as únicas alterações.
- a2. Forma severa:** inflamação mucóide com degeneração na fase inicial e necrose e hemorragia na fase final. Alterações de natureza diftérica estão freqüentemente presentes podendo atingir toda a extensão da traquéia.



Hemorragia de diferentes intensidades na mucosa da traquéia. **Fonte.** Dr Fernando Buchala

Lesões microscópicas: varia de acordo com o estágio de evolução da doença. As alterações iniciais ocorrem perda de células ciliares e infiltração inflamatória de células da mucosa. A medida que a infecção evolui, as células do epitélio respiratório aumentam de tamanho, perdem os cílios e tornam-se edematosas. Formam-se células multinucleadas (sincicial) e depois de 2-3 dias ocorre migração de linfócitos, histiócitos e células plasmáticas para a mucosa e sub-mucosa. O processo evolui com destruição e descamação na superfície mucosa. Inclusões intranucleares são observadas somente por um período e 3 dias pós infecção (PURCELL, 1971) e os corpúsculos de inclusão estão presentes entre 1-5 dias da infecção (GUY et al, 1992; VANDERKOP, 1993) e desaparecem com o progredir da doença em decorrência da necrose e descamação.

- a. **Imunidade:** depois de uma infecção instala-se uma variedade de resposta imune (JORDAN, 1981). Ac SN são detectados depois de 5-7 dias da infecção com pico por volta de 21 dias para em seguida declinar e assim permanecer por muitos meses ou anos (HITCHNER et al, 1958). Ac SN de mucosa podem ser detectados na secreção de traquéia depois de 7 dias da infecção (BAGUST, 1986 e YORK et al, 1989) com platô por volta de 10-28 dias. Ac de natureza IgA e IgG sintetizadas por células da traquéia surgem no 3º dia em estudos experimentais (YORK et al, 1989). Imunidade de natureza celular não tem sido exaustivamente estudada, mas é demonstrada reação de hipersensibilidade tardia embora não se conheça a duração (YORK & FAHEY, 1990). A imunidade

humoral embora relacionada com a infecção, não é o mecanismo de proteção primária e há uma relação de baixa intensidade entre os títulos de Ac e a proteção populacional (JORDAN, 1981). Experimentos com aves bursectomizadas revelaram que Ac não são essenciais na prevenção da replicação viral em aves vacinadas (FAHEY & YORK, 1990). Ocorre imunidade materna passivamente adquirida mas, não interfere na proteção dos pintinhos ou não interfere na vacinação (FAHEY et al, 1983 e SINKOVIC, 1974). Pintinhos com menos de 2 semanas de idade não respondem ao estímulo antigênico tão bem quanto os adultos, mas com 1 dia de vida é possível imunizar (ALLS et al, 1969; COVER et al, 1960; GELENCZEI & MARTY, 1965 e SINKOVIC & HUNT, 1968).

Soroconversão: Ac neutralizantes são detectados aos 4 dias da infecção (HANSON, 1984 e SCHMIDT, 1988), observado o máximo da soroconversão aos 14 dias da infecção (SCHMIDT, 1988; KERNOHAM, 1931 e SEDDON & HART, 1936) ou aos 21 dias (PURCELL, 1971 e GUY et al, 1990).

8. DIAGNÓSTICO:

De modo geral requer apoio laboratorial a não ser que seja um quadro agudo severo acompanhado de alta mortalidade e expectoração sanguinolenta.

a. **Diagnóstico clínico:** nas galinhas e na infecção natural, o período de incubação é da ordem de 6-12 dias (KERNOHAN, 1931; SEDDON & ART, 1936). A manifestação clínica varia desde uma doença extremamente grave caracterizada por alta mortalidade em decorrência de asfixia até uma doença moderada indistinguível de outras doenças respiratórias e a principal lesão é a traqueíte (OIE, 2000). Pode ser aguda ou moderada.

a1. Forma aguda: ocorre mais frequentemente em galinhas acometendo o aparelho respiratório com manifestação de dispnéia severa, tosse (BEACH, 1926; KERNOHAN, 1931). e expectoração de exsudato traqueal muco-sanguinolento (como a traqueia se encontra parcialmente bloqueada com sangue e exsudato, a ave estende o pescoço durante o esforço de tosse. O bico, fezes e penas podem apresentar manchas de sangue. Paredes e gaiolas são freqüentemente observadas sujas de material sanguinolento. É a forma que causa elevada mortalidade (BEACH, 1926, KERNOHAN, 1931). Intensa dispnéia e expectoração muco-sanguinolenta são características da forma epidêmica (BEACH, 1926; HINSHAW, 1931; HINSHAW et al, 1931, JORDAN, 1958; SEDDON, 1935).

a2. Forma moderada ou subaguda: é a forma mais freqüentemente encontrada, manifesta-se por conjuntivite (secreção líquida), edema de sinus nasais, traqueíte, estertores suaves e descarga nasal persistente. A mortalidade é sempre baixa.



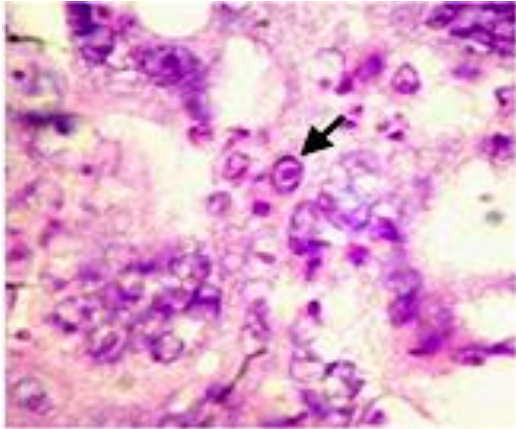
Galinha com dificuldade respiratória.
Fonte: Dr Fernando Buchala



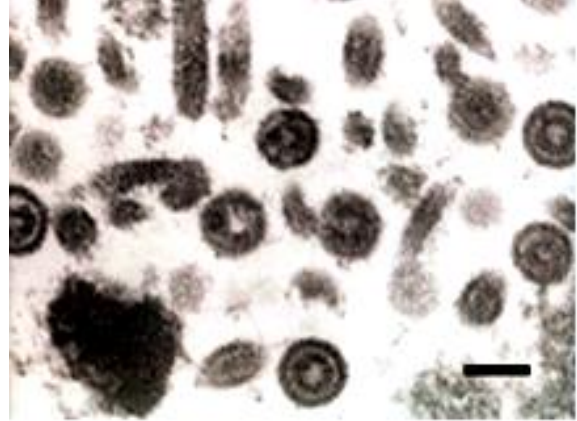
Galinha com conjuntivite. **Fonte:** Dr Fernando Buchala

As epidemias severas são caracterizadas por intenso comprometimento respiratório, expectoração muco-sanguinolenta, respiração ofegante (arfar) e alta mortalidade. A epidemia de caráter moderada é a forma atualmente mais freqüente na avicultura moderna desenvolvida e manifesta-se de forma variável como traqueite, sinusite, conjuntivite, redução da produtividade e baixa mortalidade. No passado ocorriam epidemias com manifestação grave, entretanto nos últimos anos tem ocorrido de forma mais branda principalmente na Europa, Austrália, USA e Nova Zelândia (COVER & BENTON, 1958; LINARES et al, 1994; PULSFORD & STOKES, 1953; SEDDON & HART, 1935 e WEBSTER, 1959) que tem determinado redução da produtividade, da produção de ovos, lacrimejo, inflamação dos sinos infraorbitários, descarga nasal persistente e conjuntivite hemorrágica. Geralmente a recuperação ocorre em 1-4 semanas.

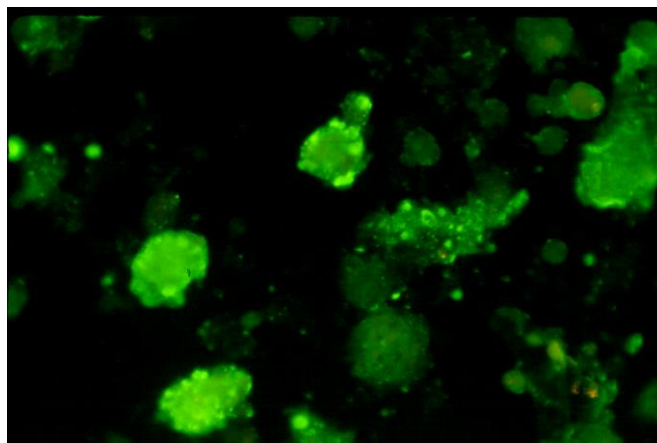
b. **Diagnóstico laboratorial:** o diagnóstico de LTI requer, de modo geral, apoio laboratorial como a maioria das doenças respiratórias das aves devido à semelhança dos sinais clínicos e lesões. O diagnóstico clínico somente é factível em casos graves quando são observadas alta mortalidade e expectoração sanguinolenta. Demais casos exigem a aplicação de mais de um procedimento laboratorial para confirmação e inclui a detecção de corpúsculos de inclusão intranuclear, isolamento viral, detecção de antígeno viral em tecidos da traqueia ou da mucosa respiratória, detecção de DNA específico do vírus da LTI ou sorologia (TRIPATHY & HANSON, 1989). A sensibilidade do método de observação de inclusão é da ordem de 57% e do isolamento é igual a 72% (KELLER & HEBEL, 1962). Diferenciação de isolados de campo e de vírus vacinal pode ser conduzida por prova da PCR de restrição (CHANG et al, 1997). Histopatologia apresenta alta especificidade para corpúsculos de inclusão. **Sorologia:** IDGA, VN, IFI e ELISA.



Seta indica célula de traquéia com corpúsculo de inclusão de vírus da LTI em ave de postura 8 dias pós infecção. **Fonte:** Dra Nilce Soares



Virions de VLT1. Barra de 200 nm. Cortesia de Monika Barth, Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro).



Corpúsculos de inclusão de vírus da LTI corados pela técnica de imunofluorescência indireta. **Fonte:** Dra Louize Dufur-Zavala.

- h. Diagnóstico histopatológico:** a LTI caracteriza-se pelo desenvolvimento de inclusões intranucleares patognomônicas nas células epiteliais do aparelho respiratório e conjuntiva coradas pela HE ou Giemsa sendo necessária a fixação em pH baixo (COVER & BENTON, 1958).
- i. Diagnóstico epidemiológico:** consiste em reunir informações sobre os fatores ligados ao agente etiológico, hospedeiro e meio ambiente para que, juntamente com os sinais clínicos, anatomia patológica e sorologia possam suspeitar da doença para fins de orientação dos exames laboratoriais como isolamento bacteriano. São informações suficientes para se comunicar o serviço oficial para adoção de medidas profiláticas de contingência. Este recurso diagnóstico refere-se aos:

- c1. Agente etiológico:** pelas características de infectividade (avaliada por sorologia e/ou isolamento avaliada pela soroprevalência, patogenicidade avaliada pelas taxas de morbidade (prevalência e incidência), virulência avaliada pela gravidade da manifestação clínica e mortalidade.
- c2. Hospedeiro:** idade (ocorrência em aves de postura ou frangos de corte, sexo, raça, linhagem, tipo de exploração econômica (criação industrial ou informal), movimentação, criação de aves de diferentes idades e procedências.
- c3. Meio ambiente:** clima (época do ano), densidade populacional, proximidade entre granjas.

Estas informações permitirão depois da confirmação do isolamento, realizar investigação epidemiológica para determinação dos fatores causais que levaram à introdução e disseminação da doença e introduzir medidas de controle.

9. TRANSMISSÃO

a porta de entrada natural do vírus da LTI no organismo do susceptível é a mucosa do aparelho respiratório e mucosa ocular (BEAUDETTE, 1930; BEAUDETTE, 1937). O vírus pode entrar na ave pela boca, mas o vírus penetra no organismo pela mucosa respiratória (ROBERTSON & EGERTON, 1981). A transmissão ocorre mais rapidamente a partir de aves com infecção aguda do que a partir de aves recuperadas, ou seja, a partir de portadores convalescentes (GUY & GARCIA, 2008). Transmissão indireta pode ocorrer pelo carreamento do vírus através equipamentos e cama contaminadas (BEAUDETTE, 1937; DOBSON, 1935; GIBBS, 1934; KINGSBURY & JUNGHER, 1958)

9.1. CADEIA DE TRANSMISSÃO: é constituída por elos ou pontos de risco

- a. Fontes de infecção (animais vertebrados que albergam o parasito e eliminam para o meio exterior):** aves doentes (+++) e portadoras (+) do vírus de campo e da vacina (TURNER, 1972 e BAGUST et al, 1986) e o vírus permaneceria latente (portador convalescente) no gânglio do trigêmio (KALETA et al, 1986 e WILLIAMS et al, 1992). Não existe evidencia de viremia (HANSON, 1991). O vírus permanece na mucosa traqueal por várias semanas ou meses (BAGUST et al, 2000). Aves doentes são mais eficazes na disseminação do vírus.
- b. Vias de eliminação (meio ou veículo que o parasito utiliza para ter acesso ao meio externo):** pelas secreções oro-nasais, tem início 6-8 dias após infecção (BAGUST et al 1986; HITCHNER et al, 1977; PURCELL & McFERRAN, 1969; ROBERTSON & EGERTON, 1981) e pode continuar sendo eliminado em baixos níveis por mais de 10 dias após inoculação (WILLIAMS et al, 1992). Reativação de VLTI latente no gânglio trigêmeo, 15 meses após vacinação,

foi relatado na Alemanha (KALETA et al, 1986). Por prova de PCR foi confirmado que o sítio principal de latência viral é o gânglio trigêmeo (WILLIAMS et al, 1992).

- c. **Vias de transmissão (meio ou veículo que o parasito utiliza para alcançar um novo hospedeiro):** contágio direto (PULSFORD, 1961), e por aerossóis e fômites (HANSON, 1984). A disseminação do vírus dentro de um galpão é rápida e entre galpões seria lenta levando muitos meses (JORDAN, 1993). Não foi demonstrada transmissão pelo ovo (HANSON, 1991). Retorno à eliminação de VLTI latente em gânglio trigêmeo pode ocorrer quando aves são submetidas ao estresse como mudança de alojamento ou início da fase de reprodução. Nas carcaças o vírus permanece viável por semanas ou meses (BAGUST et al, 2000). Equipamentos e fômites contaminados podem disseminar o vírus (BEAUDETTE, 1937; DOBSON, 1935; GIBBS, 1934; KINGSBURY & JUNGHER, 1958).
- d. **Porta de entrada (acesso do parasito ao organismo do novo hospedeiro/susceptível):** mucosas do aparelho respiratório e da conjuntiva (BEAUDETTE, 1930; BEAUDETTE, 1937).
- e. **Susceptíveis e suscetibilidade:** são naturalmente susceptíveis galinhas, faisões e perdiz. A maior susceptibilidade é observada em aves de postura pesada comparativamente as galinhas leves. Machos parecem ser mais susceptíveis que a fêmeas e esta susceptibilidade diminuiria com o progredir da idade e a doença seria mais severa no verão, ou seja, a temperaturas superiores a 35° C (SINKOVIC, 1970). Não está esclarecida a susceptibilidade ligada à idade, linhagem genética ou sexo (BRUGH, 1982; BAGUST et al, 1986 e HITCHNER et al, 1977). A idade de maior susceptibilidade seria por volta da 10ª semana de idade e no 1º período de postura embora seja possível a infecção em outros períodos de vida (FAHEY et al, 1983). A despeito de não existir comprovação de susceptibilidade ligada à idade, aves adultas manifestam sinais clínicos mais característicos.

Abaixo, passa-se a mencionar algumas situações epidemiológicas sobre a entrada do agente em uma granja e disseminação para outras instalações da mesma granja e para outras granjas.

Como o agente da LTI pode entrar em uma granja: pela introdução de aves infectadas (galinhas, faisões e perdiz) e considerando que dentre as galinhas, a frequência de infectadas é em ordem decrescente adultos, frangos e pintinhos; pela utilização de equipamentos, objetos contaminados e que são utilizados de forma comunal entre várias granjas; entrada de veículos e gaiolas previamente não sanitizadas (limpeza, lavagem e desinfecção); pessoas (funcionários, veterinários, visitantes e técnicos terceirizados) que ingressam com roupas e calçados de trânsito externo.

Mecanismos como o agente se transmite de ave a ave dentro de um galpão: principalmente por via aerógena que se formam a partir da tosse;

água contaminada com secreção nasal de aves infectadas; e mãos de trabalhadores que manuseiam aves e/ou ovos.

Mecanismos como o agente se dissemina de um galpão para outro: usualmente por equipamentos, objetos, mãos, vestimentas e calçados contaminados no galpão com aves infectadas e assim sucessivamente.

Mecanismos como o agente se dissemina de uma granja para outra: usualmente por equipamentos e objetos que são emprestados uma para outra; por mãos, vestimentas e calçados, veículos, bandejas, gaiolas, instrumentos de debicagem e outros contaminados na granja com aves infectadas e assim sucessivamente.

9.2. PROFILAXIA: requer cooperação entre a indústria avícola e os órgãos governamentais (BAGUST & GUY, 1997)

a. Educação em saúde dos criadores e de seus auxiliares: para que diante de suspeita de ILT, o órgão estadual de DSA seja notificado e imediatamente atendido. Em caso de suspeita fundamentada abre-se FORM-IN (à semelhança de toda e qualquer doença infecciosa contagiosa ou não) e que se incumbirá de proceder à colheita de material para envio ao laboratório competente com vistas à confirmação. Médicos Veterinários modernos devem na prática de campo, não subestimar sinais respiratórios, pois os sinais clínicos não são patognomônicos para qualquer doença respiratória das aves. Disciplinar-se a comunicar o sérico oficial independentemente da mortalidade que possa estar associada.

Pessoal direta e indiretamente envolvido nas atividades de uma granja deve ser orientado quanto à prática de medidas de prevenção:

- a1.** Não carrear agentes de doença no próprio corpo, vestimenta e calçados utilizados fora da granja não devem ser utilizados no interior da granja (**medidas de higiene pessoal**);
- a2.** Prevenir a disseminação do vírus de doença de uma ave para outra ou de um galpão para outro pela adoção de medidas de boas práticas de manejo sanitário durante a rotina de trabalho como lavar as mãos e realizar assepsia, trabalhar inicialmente em galpões de aves mais jovens para em seguida dirigir-se ao de mais idade embora devam evitar tal mistura de atividade (**medidas de higiene operacional**);
- a3.** Utilizar objetos lavados e/ou desinfetados no manejo das aves e ovos bem como em outras atividades de rotina (medidas de limpeza, lavagem e desinfecção);
- a4.** Evitar a entrada de animais estranhos (incluindo aves migratórias), pessoas estranhas à rotina, veículos de trânsito externo.
- a5.** Não criar aves de fundo de quintal, informal ou de estimação.

b. Biossegurança: conjunto de medidas de profilaxia objetivando impedir a entrada e/ou saída de agentes de doenças e proceder ao

monitoramento para diagnosticas precocemente e atuar prontamente em caso de introdução de doença (s).

c. Medidas de profilaxia relativas a cada elo da cadeia epidemiológica:

c1. Medidas relativas às fontes de infecção: inicia com as ações de vigilância passiva pela comunicação ao serviço oficial local para serem adotadas medidas que visam reduzir ou minimizar ou impedir as oportunidades de disseminação do agente etiológico de um galpão para outro ou de uma granja para outra de ua mesma região ou não e devem ser adotadas mesmo antes da confirmação laboratorial. As medidas mais importantes são:

- Segregação da granja para impedir ou limitar a movimentação de aves doentes e/ou portadoras para áreas ou criações indenens. Atender sempre as orientações do serviço oficial.
- Manter distante as aves de fundo de quintal, de exposição, de pássaros de vida livre ou de estimação (MALLINSON & MURPHY, 1981 e McNULTY et al, 1985);
- Aves convalescentes devem ser movimentadas com critério considerando a condição de portador embora exista apenas uma citação de permitir 2 semanas depois do último caso (DAVIDSON & MILLER, 1988).
- Sorologia para estabelecer critérios de movimentação não é confiável, pois não constante resultados positivos em aves infectadas devido à localização do vírus nas aves doentes e nas portadoras e a baixa frequência de viremia.

c2. Medidas relativas às vias de transmissão:

- Ventilação adequada das instalações para renovação do ar e diluir partículas infecciosas. A desinfecção periódica do ar é um forte aliado do criador na redução de ocorrência de doenças respiratórias
- Limpeza e desinfecção de fômites (equipamentos, veículos, objetos de uso diário etc). Lembrar que desinfetantes comuns podem ser fortes aliados na destruição do vírus da LTI presente no meio ambiente e nos seus diferentes componentes. Limpeza e lavagem devem preceder à desinfecção.
- Em criações com alta densidade de aves e/ou elevado número de aves afetadas, a desinfecção do ar é um forte aliado para reduzir o tempo de recuperação. É uma medida particularmente importante em criações que utilizam gaiolas sob repostas.
- Disposição adequada de excretas, lixo, cadáveres etc.

c3. Medidas relativas aos susceptíveis:

1. **Medidas inespecíficas:** não adquirir aves de origem desconhecida, evitar alta densidade para prevenir estresse, aliviar excesso de calor nos galpões, não criar aves de idades ou fases diferentes em uma mesma granja ou núcleo.

2. **Medidas específicas:** imunidade, vacinas e vacinação.

2.1. IMUNIDADE: Uma grande variedade de resposta imune ocorre depois de uma infecção pelo vírus da LTI (JORDAN, 1981). Há evidência da importância da resposta imune mediada por células, porque títulos de anticorpos contra laringotraqueíte no soro não ter relação com a resistência à infecção (HITCHNER & WINTERFIELD, 1960; SHIBLEY et al, 1962; JORDAN, 1981). Anticorpos soroneutralizantes são detectados depois de 5-7 dias da infecção com pico por volta de 21 dias para em seguida declinar e assim permanecer por muitos meses ou anos (HITCHNER et al., 1958). Anticorpos podem ser detectados na secreção traqueal aproximadamente 7 dias depois da infecção (BAGUST, 1986; YORK et al, 1981). A IgM aparece com 4-5 dias após infecção e diminui com 10-12 dias. A IgG e a IgA aparecem com 5 dias após infecção e permanecem por até três semanas e meia (GARY & BUTCHER, 2003). O vírus é capaz de despertar resposta imune que pode ser medida por diferentes provas. Estirpes de baixa virulência parecem ser fracamente neutralizadas por anticorpos (ROBERTSON, 1977; ROBERTSON & EGERTON, 1981).

Anticorpos soroneutralizantes de mucosa podem ser detectados na secreção de traquéia depois de 7 dias de infecção (BAGUST, 1986 e YORK et al., 1989) com pico por volta de 10-28 dias. IgA e IgG, sintetizadas por células na traquéia, surgem no terceiro dia em estudos experimentais (YORK et al., 1989). Anticorpos secretórios incluindo IgA, são importantes para conferir resistência à infecção nas superfícies mucosas, como o trato respiratório (WALDMAN & GANGULY, 1974). Resposta por anticorpos de mucosa IgA, é também reconhecida como sendo a resposta local mais eficiente contra antígenos (GERBER et al, 1978). IgM foram detectadas em lavados de traquéia a partir do sexto dia de infecção experimental e anticorpos séricos não foram detectados até duas semanas após a inoculação. Em aves vacinadas, anticorpos específicos séricos foram detectados entre 5-7 dias da vacinação e não eram IgA. Imunidade de natureza celular não tem sido exaustivamente estudada, mas é demonstrada na reação de hipersensibilidade tardia e não se conhece a duração (YORK & FAHEY, 1990). A imunidade humoral, embora relacionada com a infecção, não é o mecanismo de proteção primária e há uma relação de baixa intensidade entre os títulos de anticorpos e a proteção do lote (JORDAN, 1981).

Experimentos com aves bursectomizadas revelaram que anticorpos não são essenciais na prevenção da replicação viral em aves vacinadas (FAHEY & YORK, 1990). Ocorre imunidade materna passivamente adquirida, mas não há interferência na

proteção dos pintos ou não interfere na vacinação (FAHEY et al., 1983 e SINKOVIC, 1974). A vacinação em aves acima de duas semanas de idade, confere alta proteção a partir de seis a oito dias (BENTON et al, 1958; GELENCZEI & MARTY, 1964; HITCHNER, 1975). Pintos com menos de duas semanas de idade não respondem ao estímulo antigênico tão bem quanto aves adultas, mas com um dia de vida é possível imunizar (ALLS et al., 1969; COVER et al., 1960; GELENCZEI & MARTY, 1965 e SINKOVIC & HUNT, 1968).

Anticorpos maternos e níveis de anticorpos neutralizantes não têm correlação com a proteção. Dessa forma a proteção primária é mediada por resposta imune celular. Devido a este fator, é importante considerar o delineamento de estratégias de vacinação. A vacina efetiva deve ter efeito na mucosa, mediar células de defesa e exercer resposta imune protetora. A vacinação para laringotraqueíte é geralmente utilizada em áreas onde a doença seja endêmica (GARY & BUTCHER, 2003).

GUY et al. (1991) têm relatado que vacinas vivas modificadas de laringotraqueíte podem aumentar ou reverter sua patogenicidade por mutação durante a passagem de ave a ave. Isto causa alguma relutância em se usar a vacina em regiões onde não exista a doença ou esteja ocorrendo esporadicamente. Outros autores defendem que cepas de vacinas de laringotraqueíte são geneticamente estáveis (KEELER et al, 1993).

2.2. VACINAS:

Vacina viva virulenta: As primeiras tentativas de imunização foram pela aplicação por via cloacal de vírus virulento (BRADBLY & BUSHNELL, 1934) que revelaram estimular resposta imune irregular em pintinhos vacinados e conseqüente variação do nível de proteção. Está superada.

Vacina viva atenuada: tradicionalmente existem dois tipos de vacinas vivas atenuadas. A vacina atenuada por múltiplas passagens em ovos embrionados (SAMBERG et al, 1971) que é altamente efetiva, mas em alguns casos, pode resultar em baixa performance e alta condenação de carcaças. Geralmente é utilizada para frangos de corte via água de bebida. O outro tipo de vacina atenuada é obtido através de **múltiplas passagens em cultura de tecido** (GELENCZEI & MARTY, 1964), geralmente de baixa proteção e imunogenicidade e, comumente utilizadas em matrizes e poedeiras. Há a possibilidade de imunização de pintinhos com o uso de vacinas atenuadas por passagem sucessiva em cultivo celular (FITZGERALD & HANSON, 1963, IZUCHI et al, 1983 e IZUCHI et al, 1984) e em ovo embrionado (SAMBERG

& ARONOVICI, 1969). As vacinas vivas atenuadas podem ser aplicadas através dos seios infra-orbitais (SHIBLEY et al, 1962), instilação intra-nasal (BENTON et al, 1958), ocular (SINKOVIC & HUNT, 1968) e na água de bebida (SAMBERG et al, 1971). De acordo com FULTON et al. (2000), a vacina aplicada através de gota ocular protege mais que a aplicada na água de bebida ou spray.

Título de vírus: deve conter mais de 10^2 UFC/ml (RAGGI & LEE, 1965) quando se utiliza uma via de aplicação que não seja a oral. No caso de via oral, a dose viral deve ser igual a 10^5 doses infectante para embrião (HITCHNER, 1969).

Advertência: vírus vacinal atenuado em ovo embrionado dissemina-se para aves não vacinadas (ANDREASEN et al 1989; CHURCHILL, 1965; HILBINK et al, 1987 e SAMBERG et al, 1971), persistência de aves com infecção latente, reversão de patogenicidade pela passagem sucessiva em aves susceptíveis (GUY et al, 1991) e outras reações adversas decorrente de insuficiente atenuação viral, penetração profunda do vírus vacina no aparelho respiratório devido ao pequeno tamanho das gotículas do spray (PURCELL 1974). Existem relatos de surtos causados por vírus vacinal (GUY et al, 1989, 1990 e 1991). Amostras de vírus de campo e sua correspondente vacinal não são distinguíveis por provas de restrição-DNA, mas diferenciadas no campo pela diferença na morbidade e mortalidade (GUY et al, 1990). Tal disseminação deve ser evitada no campo. Caso a vacinação seja necessária, a disseminação viral deve ser evitada através medidas de biosseguridade e o compromisso de se vacinar todas as aves da área geográfica (GUY & GARCIA, 2008).

Existem relatos de surtos causados por virus vacinal (GUY et al, 1989; GUY et al, 1990; GUY et al, 1991). Em estudos comparando sementes de vacinas com vírus isolado em surtos de campo, as estirpes não foram distinguíveis por provas de análise de DNA de restrição de endonuclease (GUY et al, 1989). Estudos com 2 vacinas modificadas em ovo embrionado (CEO) e em cultivo celular (TCO) revelaram em estudos por passagem sucessivas em pintinhos SPF revelando que apenas a vacina CEO revertia a patogenicidade com capacidade de causar surtos no campo após 10 passagens sucessivas e sugerem como fatores predisponentes para reversão a vacina aplicada em água de bebida e baixas condições de biosseguridade que favorecem a rápida disseminação do vírus vacinal para aves não vacinadas (GUY et al, 1991).

Cuidados: o emprego de vacinas vivas modificadas implica em compromisso tácito de vacinar todas as aves (TYZARD, 2002) da

área geográfica considerada. Vacinas a serem aplicadas por spray devem estar suficientemente atenuadas para não provocar reações adversas. Eficácia e eficiência da vacinação dependem da via de inoculação e dose individual; estocagem da vacina; diluição para uso. Evitar disseminação do vírus da vacina. É preciso ter em mente que vacinas não dispensam o emprego de medidas inespecíficas de profilaxia

Vacina recombinante: genes de duas proteínas (glicoproteína B ou D) do vírus da LTI são inseridos em vírus da doença de Marek ou da Boubá como sistema de vetores, levando a uma resposta imune protetora contra laringotraqueíte. Vacina à base de vírus vivo de Boubá como vetor geneticamente modificado, protege contra antígenos da laringotraqueíte (GARY & BUTCHER, 2003).

Novas vacinas: imunização utilizando-se de ferramentas genéticas vem sendo desenvolvida para induzir imunidade protetora contra doenças. Vacinas baseadas em DNA, geralmente são rápidas e fáceis de produzir. Plasmídios não são infecciosos, não replicam, são estáveis e podem ser estocados em condições onde os vírus vivos seriam destruídos. Eles podem ser administrados através de várias vias, incluindo administração "in ovo". A primeira vacinação de laringotraqueíte com DNA foi realizada em 1995 (KEELER et al., 1995). A alta eficácia da vacina de DNA e o desenvolvimento de práticas de baixo custo na aplicação dessa tecnologia já é presente e será cada vez mais requisitada pela indústria avícola (GARY & BUTCHER, 2003).

Estirpe inativada de Engenharia Genética ou recombinantes: vacinas preparadas a partir de vírus íntegro e a partir de glicoproteínas (YORK & FAHEY, 1991). São basicamente vacinas recombinantes em diferentes substratos e os resultados indicam indução de resposta imune e variados graus de proteção ao desafio (GUIO et al, 1994; OKAMURA et al, 1994 e SAIF et al, 1994). Existem variadas metodologias de preparo de vacinas recombinantes e a revisão de BAGUST & JOHNSON (1995) sugere que esta vacina pode ser empregada em associação com quarentena e demais medidas preventivas para o desenvolvimento de medidas regionais de erradicação.

Origem da vacina recombinante: vacinas recombinantes surgiram para o desenvolvimento de programas de controle da LTI. Podem ser de 2 modalidades: uma delas é preparada a partir de inserção de gen do vírus da LTI em outro vírus denominado vetor e uma outra modalidade consiste em provocar alteração ou deleção de gen viral. Vacinas vetorizadas têm sido avaliadas por diferentes pesquisadores (DAVISON et al 2006, SAYF et al,

1994; TONG et al, 2001). Assim, SAYF et al (1994) avaliou a eficácia de uma vacina recombinante utilizando como vetor herpesvirus de peru contendo gens do vírus da LTI que se mostrou capaz de proteger contra desafios de LTI. TONG et al (2001) construiu uma vacina recombinante com gen gB do vírus da LTI inserido em vírus da varíola aviária e a proteção frente ao vírus da LTI foi semelhante a da vacina CEO. DAVISON et al (2006) avaliou a vacina vetorizada em pox vírus inserido com os genes Gb e UL-32 e verificou resposta imune capaz de proteger as aves contra desafios pelo vírus da LTI.

Construção de vacina recombinante: baseado na interação ou deleção de um gene viral com obtenção de mutante do vírus da LTI que perdeu o gen codificador de patogenicidade, mas preservando a capacidade de induzir a produção de imunidade protetora. Inúmeras mutantes deletadas têm sido desenvolvidas potencialmente úteis no controle (FUCHS et al, 2000; FUCHS et al, 2005; GUO et al, 1994; LUSCHOW et al, 2001, OKAMURA et al, 1994;SCHINITZLEIN et al, 1995; VEITS et al, 2003a; VEITS et al, 2003b).

2.3. VACINAÇÃO:

Pintinhos podem ser vacinados com sucesso no 1º dia de vida (PULSFORD & STOKES, 1953), porém não respondem tão bem comparativamente aos de 2 semanas de idade ou mais (COVER et al, 1960; DOBSON, 1935; GELENCZEI & MARTY, 1964). Reações decorrentes da vacinação são mais frequentes nas mais jovens.

Em pintinhos com 2 semanas de idade, a vacinação ou infecção natural confere proteção parcial contra desafios de campo após 3-4 dias da vacinação e que se torna completa aos 6-8 dias depois (BENTON et al, 1958; GELENCZI & MARTY, 1964; HITCHNER, 1969), a imunidade protetora é observada apenas 8-15 semanas pós-vacinação (HITCHNER & WINTERFIELD, 1960) e a imunidade populacional somente após 15-20 semanas (ALLS et al, 1969; GIELENCZEI & MARTY, 1965; PICAULT et al, 1982)

Vacinação pode ser um forte aliado para conter epidemias. Experimentalmente frangos de corte vacinados contra LTI apresentaram baixos níveis de anticorpos séricos e variando segundo os grupos experimentais estudados, as vacinas utilizadas e a via utilizada para desafio. Foi também observado que a capacidade de resistir ao desafio estava relacionada ao título geométrico médio de Ac presentes antes do desafio (ANDREASEN et al, 1989).

A vacinação tem se revelado como método satisfatório para a proteção de população de pintinhos, mas a vacinação pode

resultar no aparecimento de portadores de vírus latente e é recomendada apenas nas regiões onde a doença é endêmica e agências reguladoras (defesa sanitária animal) devem ser consultadas para que possam ser utilizadas vacinas aprovadas e a via de aplicação deve ser também determinada (GUY & GARCIA, 2008)

A imunidade passiva adquirida através do ovo apresenta pequena importância (HAYLES et al, 1976). A imunidade celular é mais importante que a humoral e esta última, embora associada à infecção, não é o mecanismo primário de proteção quando avaliada pela relação entre títulos de anticorpos e proteção (ROBERTSON, 1981 e HANSON, 1991). Aves vacinadas ou naturalmente infectadas tornam-se portadoras e, portanto, não devem ser misturadas com as susceptíveis para que não sejam infectadas a partir delas.

2.4. VIAS DE APLICAÇÃO:

Cuidado para garantir a conveniente imunização das aves aplicando a dose correta e a via de aplicação para cada tipo de vacina. .

Via oral (água de bebida) ou spray: é um método rápido e econômico, mas exige atenção para que todas as aves recebam a dose correta e depende da penetração do vírus vacinal pela mucosa do trato respiratório (via narinas e coanas) caso contrário, este método resultaria em elevada parcela de aves não protegidas (ROBERTSON & EGERTON, 1981). A aplicação via spray pode ocasionar reações indesejáveis principalmente se o vírus vacinal não tiver sido convenientemente atenuado ou penetração profunda do vírus no trato respiratório (PURCELL & SURMAN, 1974) ou pela dose excessiva (CLARKE et al, 1980).

Via orbital ou instilação ocular (SHIBLEY et al, 1962); instilação nasal (BENTON et al, 1958); folículo de penas (MOLGARD & CAVETT, 1947); intra-ocular (SINKOVIC & HUNT, 1968); e por via oral adicionada à água de bebida. São indicados a via oral (água de bebida) e spray por serem de fácil aplicação e permitir vacinação em massa. A aplicação pela água de bebida implica no contacto da água com as células do epitélio nasal conseqüente à aspiração do vírus pelo opérculo (ROBERTSON & EGERTON, 1981).

Via folículo de penas: método pertencente ao passado (HUNT, 1959; MOLGARD & CAVETT, 1947)

PROTOCOLO DE VACINAÇÃO

Pintinhos podem ser vacinados efetivamente com 1 dia de idade (PULSFORD & STOKES, 1953), entretanto, aves com menos de 2 semanas de idade reagem à vacinação com menos intensidade que as mais velhas (ALLS et al, 1969; COVER et al, 1960; GELENCZEI & MARTY, 1965). Reações pós vacinais ocorrem mais frequentemente em aves jovens (GUY & GARCIA, 2008).

Em pintos com mais de 2 semanas de idade, a vacina viva modificada ou desafio de campo confere proteção contra desafios que é parcial aos 3-4 dias pós vacinação e completa após 6-8 dias (BENTON et al, 1958; GELENCZEI et MARTY, 1964; HITCHNER, 1975). Imunidade do plantel (imunidade populacional) pode ser observada após 15-20 semanas após vacinação (ALLS et al, 1969; GELENCZEI & MARTY, 1965; PICAULT et al, 1982) e raramente entre 7-15 semanas (HITCHNER & WINTERFIELD, 1960). A revacinação após 15 semanas é questionável (JORDAN, 1962) principalmente com vacina viva modificada devido à neutralização do vírus vacinal pela imunidade das aves (FAHEI & YORK, 1990; YORK et al, 1989).

Em planteis de múltiplas idades, as aves podem ser vacinadas com vacina viva modificada; idealmente podem ser imunizadas com 2 doses antes do início da postura por via ocular, na água de bebida às 7 semanas e por via ocular, na água de bebida ou spray às 15 semanas de idade (FULTON et al, 1990). A via ocular tem-se mostrado mais eficaz do que a via água de bebida e via spray não tem apresentado bons resultados (FULTON et al, 1990).

Criações de frangos de corte que apresentam boas condições de biossegurança e praticam sistema tudo dentro – tudo fora, dispensa a vacinação exceto nos casos de localização próxima a focos de LTI recomendando-se vacinação entre 10-21 dias de idade usualmente pela água de bebida (**GUY & GARCIA, 2008**).

Vacinas recombinantes apresentam a vantagem de dupla proteção, ou seja, contra vírus vetor e contra LTI.

ERRADICAÇÃO: em locais de intensa produção avícola é altamente factível a opção de erradicação em face das propriedades biológicas e ecológicas do VLTI como a elevada especificidade de hospedeiros que infecta, baixa resistência do VLTI nas condições do meio ambiente e a estabilidade antigênica do genoma viral (BAGUST & JOHNSON, 1995). Adicionalmente sabe-se que aves silvestres têm pouca importância na epidemiologia da doença e reservatórios representados por aves de fundo de quintal ou de criação informal podem ser alvo de atenção profilática (MALLINSON et al, 1981). Sendo as diferentes estirpes do VLTI homogêneo, uma vacina produzida com determinada estirpe confere proteção contra as demais. A erradicação estará bastante facilitada pelo uso de vacinas preparadas a partir de engenharia genética que são capazes de estimular boa imunidade e isenta da indução de infecção latente e conseqüente formação de portadores.

PONTOS CRÍTICOS DA BIOSSEGURIDADE MERECEDORES DE ATENÇÃO PRIMÁRIA

Galpão: fechado para prevenir entrada de aves de vida livre.

Galpão tipo Californiano: prevenir pouso de aves de vida livre nos telhados.

Superlotação do galpão: como a transmissão de doenças respiratórias depende diretamente da proximidade entre aves, prevenir a superlotação
Cuidados com o ar: como a transmissão de doenças respiratória é aerógena, cuidado especial com a renovação constante do ar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. ALLS, A.A.; IPSON, J.R.; VAUGHAN, W.D. Studies on na ocular ILT vaccine. **Avian Diseases**, v.13, p.36-45, 1969.
2. ANDREASEN, J.R.; GLISSON, JR.; GOODWIN, M.A; RESSURRECCION, R.S.; VILLEGAS, P.; BROWN, J. Studies of ILT vaccines: Immunity in layers. **Avian Diseases**, v. 33, p. 524-530, 1989.
3. ANDREASEN, J.R.; GLISSON, J.R.; VILLEGAS, P. Differentiation of vaccine strains and Geórgia field isolates of ILT virus by their restriction endonuclease fragment patterns. **Avian Diseases**, v. 34, p.646-656, 1990.
4. ANDREASEN, J.R.; VILLEGAS, P. e BROWN, J. Studies on a ocular ILT vaccine. **Avian Diseases**. V.13, NP.36-45, 1989.
5. BAGUST, T.J. e GUY, J.S. Laryngotracheitis. *In* **Diseases of Poultry**, 10th ed., Iowa State University Press, Iowa, 1997. Cap. 19, p.527-539, 1997.
6. BAGUST, T.J.; JOHNSON, M.A. Avian ILT: Vírus-host interactions in relation to prospects for eradication. *Avian Pathol.*, v. 24, p.373-391, 1995.
7. BAGUST, T.J.; JONES, R.C. e GUY, J.S. Avian infectious laryngotracheitis. **Revue Scientifique et technique Office International dès Epizooties**. V.19, n.2, p.483-492, 2000.
8. BEACH, J. R. Infectious bronchitis of fowls. **J Am Vet Med Assoc**, v. 68, p. 570—580, 1926
9. BEACH, J.R. The vírus of laryngotracheitis of fowls. **Science**, v.72, p.633-634, 1930.
10. BEAUDETE, F.R. Infectious bronchitis. **N. J. Agric. Exp. Sto. Annu Rep.**, v.51, p.286, 1930.
11. BEAUDETE, F.R. Infectious Laryngotracheitis. **Poult. Sci.**, v.16, p.103-105, 1937.
12. BENTON, W. J.; COVER, M. S.; GREENE, L. M. The clinical and serological response of chickens to certain laryngotracheitis viruses. **Avian Diseases**, v. 2, p.383-396, 1958.
13. BRANDLY, C.A.; BUSHNELL, L.D. A report of some investigations of infectious laryngotracheitis. **Poult Sci**, v. 13, p. 212-217, 1934.
14. CHANG ; P; LEE,Y; SHIEN, J E SHIEH, H. Rapid differentiation of vaccine and field isolates of infectious laryngo tracheitis vius by restriction lrrnght polymorphism of PCR products. *Jpurnal of Virilological Methods*. V. 66, p179-186, July 1997.
15. CHURCHILL, A.E. The use of chicken kidney tissue cultures in the study of the avian viruses of ND, ILT, and IB. *Res. Vet. Sci.* v.6, p.162-169, 1965.
16. CLAVIJO, A.; NAGY, E. Differentiation of infectious laryngotracheitis virus strains by polymerase chain reaction. *Avian Dis* 41:241—246, 1997.
17. CLARKE, J.K.; ROBERTSON, G.M. e PURCELL, D.A. Spray vaccination of chickens using ILT virus. **Aust. Vet.**, v.56, p.424-428, 1980.
18. COVER, M.S. e BENTON, W.J. The biological variation of ILT vírus. **Avian Diseases**. v.2, p.375-383, 1958.
19. COVER, M.S.; BENTON, W.J. e KRAUSS, W.C. The effect of parental immunity and age on the response to ILT vaccination. **Avian Dis.**, v.4, p.467-473, 1960.
20. CREELAN, J.L.; CALVERT, V.M.; GRAHAN, D.A.; McCULLOUGH, S.J. Rapid detection and characterization from field cases of infectious laryngotracheitis virus by real-time polymerase chain reaction and restriction fragment lengh polymorphism. **Avian Pathol**, v. 35, p. 173-179, 2006.
21. CURTIS, P.E. e WALLS, A.S. Infectious Laryngotracheitis. **Vet. Rec.**, v.112, p.486, 1983.
22. DAVIDSON, S. e MILLER, K. Recent laryngotracheitis outbreaks in Pennsylvania. **Proc.** 37 th West Poultry Conf., Sacramento, CA, p. 135-136, 1988.
23. DAVISON, S.; GINGERICH, E.N.; CASAVANT, S.; ECKROADE, R.J. evaluation of the efficacy

- of a live fowlpox-vectorade infectious laryngotracheitis/avian encephalomyelitis vaccine against ILT viral challenge. *Avian Dis*, v.50, p. 50-54, 2006.
24. DOBSON, N. Infectious laryngotracheitis in poultry. *Vet. Rec*, v. 15, p. 1467-1471, 1935.
 25. FAHEY, K.J. e YORK, J.J. The role of mucosal antibody in immunity to ILT virus in chickens. *J. Gen. Virol.* v.71, p.2401-2405, 1990.
 26. FAHEY, K. J., YORK, J. J. e BAGUST, T. J. Laryngotracheitis herpesvirus infection in chicken; The role of humoral antibody in immunity to a graded challenge infection. *Avian Path.* v. 12, p. 505-514, 1983.
 27. FUCHS, W.; ZIEMANN, K.; TEIFKE, J.P.; MATTENLEITER, T.C. The non-essential UL-50 gene of avian infectious laryngotracheitis virus encodes a functional dUTPase which is not a virulence factor. *J. Gen Virol*, v. 81, p. 627-638, 2000.
 28. FUCHS, W.; WIESNER, D.; VEITS, J.; TEIFKE, J.P.; MATTENLEITER, T.C. *In vitro* and *in vivo* relevance of infectious laryngotracheitis virus gJ proteins that are expressed from spliced and nonspliced mRNAs. *J. Viro*, v. 79, p. 705-716, 2005.
 29. FULTON, R.M.; SCHRADER, D.L.; WILL, M. Effect of route of vaccination on the prevention of infectious laryngotracheitis in commercial egg-laying chickens. *Avian Dis.* v.44, p.44-8, 2000.
 30. GARCIA, M.; RIBLET, S.M. Characterization of infectious laryngotracheitis virus (ILT) vaccine strain and field isolates: demonstration of viral sub-populations within vaccine preparations. *Avian Dis*, v. 45, p. 558, 566, 2001.
 31. GARY D.; BUTCHER, D. V. M. Disease Prevention in Commercial Poultry. **Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.** 1993. Reviewed 2003. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu>. Acesso em: 01/06/04.
 32. GELENCZEI, E. F. e MARTY, E. W. Studies on a tissue-culture modified infectious laryngotracheitis virus. *Avian Dis*; 8:105-122, 1964
 33. GELENCZEI, E. F. e MARTY, E. W. Strain stability and immunologic characteristics of a tissue-culture modified ILT virus. *Avian Dis*, v. 9, p. 44-56, 1965.
 34. GERBER, J. D.; MARRON, A. E.; KUCERA, C. I. Local and systemic cellular and antibody immune responses of cattle to infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine administered intranasally or intramuscularly. *American Journal of Veterinary Research* 1978; 39: 753-760.
 35. GIBBS, C.S. The Massachusetts plan for the eradication and control of ILT. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 83, p.214-217, 1933.
 36. GIBBS, C.S. Infectious laryngotracheitis field experiments: Vaccination. *Mass Agric Exp Stn Bull*, v. 305, p. 57. 1934.
 37. GRAHAM, R.F.; THROP, JR.; JAMES, W.A. Subacute or chronic infectious avian laryngotracheitis. *J. Infect. Dis.*, v.47, p.87-91, 1931.
 38. GRAHAN, D.A.; McLAREN, I.E.; CALVERT, V.M.; TORRENS, D.; MEEHAN, B.M. RFLP analysis of recent Northern Ireland isolates of infectious laryngotracheitis: comparison with vaccine virus and field isolates from England, Scotland and Republic of Ireland. *Avian Pathol*, v. 29, p. 57-62, 2000.
 39. GUO, P.; SCHOLZ, E.; TUREK, J.; NORDGREEN, R.;MALONEY, B. Assembly pathway of avian infectious laryngotracheitis virus. *Am. J. Vet. Res.*, v.54, p.2031-2039, 1993.
 40. GUO, P.; SCHOLZ, E.; MALONEY, B.; WELNIAK, E. Construction of recombinant avian ILT virus expressing the B-galactosidase gene and DNA sequencing of the insertion region. *Virology*, v.202, p.771-781, 1994.
 41. GUY, J.S.; BARNES, H.J.; MUNGER, L.L.; ROSE, L. Restriction endonuclease analysis of ILT viruses: Comparison of modified-live vaccine viruses and North Carolina field isolates. *Avian Diseases*, v.33, p.316-323, 1989.
 42. GUY, J.S.; BARNES, H.J. e SMITH, L.G. Virulence of ILT viruses: Comparison of modified-live vaccine viruses and North Carolina field isolates. *Avian Diseases*, v.34, p.106-113, 1990.

43. GUY, J. S.; BARNES H. J.; SMITH, L. G. Increased virulence of modified-live infectious laryngotracheitis vaccine virus following bird-to-bird passage. **Avian Diseases**, v. 35, p. 348-355, 1991
44. GUY, J.S.; BARNES, H.J.; SMITH, L.G. Increased virulence of modified-live ILT vaccine virus following bird-to-bird passage. **Avian Diseases**, v.35, p.348-355, 1991.
45. GUY, J.S.; BARNES, H.J. e SMITH, L.G. Rapid diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibody-based immunoperoxidase procedure. *Avian pathol*, v. 21, p.77-86, 1992.
46. GUY, J.S.; GRACIA, M. Laryngotraqueitis. *In: Diseases of Poultry*, 12nd ed., Iowa State University Press, 1324p, 2008.
47. HAN, M.G.; KIM, S.J. Comparison of virulence and restriction endonuclease cleavage patterns of infectious laryngotracheitis viruses isolated in Korea. **Avian Pathol**, v. 30, p. 337-344, 2001.
48. HAN, M.G.; KIM, S.J. efficacy of live virus vaccine against infectious laryngotracheitis assessed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Avian Dis*, v. 47, p. 261-271, 2003.
49. HANSON, L.E. Laryngotracheitis. *In: Diseases of Poultry*, 8th ed., Iowa State University Press, 1984.
50. HANSON, L.E. Laryngotracheitis. *In: Diseases of Poultry*, 9th ed., Iowa State University Press, Iowa, 1991. Cap. 18, p.485-495.
51. HAYASHI, S.; ODAGIRI, Y.; KOTANI, T.; HORIUCHI, T. Pathological changes of tracheal mucosa in chicken infected with ILT vírus. **Avian Diseases**, v.29, n.40, p.945-950, 1985.
52. HAYLES, L.B.; NEWBY, W.C.; GASPERDONE, H. Immunization of broiler chickens with a commercial ILT vaccines in drinking water. **Can. J. Comp. Med.**, v.40, p.129-134, 1985.
53. HILBINK, F.W.; OEI, H.L.; VAN ROOZELAAR, D.J. Virulence of five live virus vaccines against ILT and their immunogenicity and spread after eye-drop or spray application. **Vet. Q.** , v.9, p. 215-225, 1987.
54. HINSHAW , W.R. A survey of ILT of fowls. **Calif. Agric. Exp. Stn. Bull.**, v.520, p.1-36, 1931.
55. HINSHAW, W. R.; JONES, E. C.; GRAYBILL, W.H. 1931. A study of mortality and egg production in flocks affected with laryngotracheitis. *Poult Sci* 10:375—382.
56. HITCHNER, S.B.; SHEA, C.A e WHITE, P.G. Studies on a serum neutralization test for diagnosis of laryngotracheitis in chickens. **Avian Dis.**, v.2, p.258-269, 1958.
57. HITCHNER, S.B. Virus concentration as a limiting factor i immunity response to laryngotracheitis vaccines. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.154, p.1425, 1969.
58. HITCHNER, S. B. Infectious laryngotracheitis. The virus and the immune response. **American Journal Veterinary Research**, v. 36, p. 518-519, 1975.
59. HITCHNER, S.B.; FABRICANT, J. e BAGUST, T.J. A fluorescent antibody study of the pathogenesis of ILT. **Avian Diseases**, v.21, p.185-194, 1977.
60. HITCHNER, S.B.; WINTERFIELD R. W. Revaccination procedures for infectious laryngotracheitis. **Avian Diseases**, v.4, p.291-303, 1960.
61. HUNT, S. The feather follicle method of vaccinatín baby chicks with laryngotracheitis vaccine. **Proc. Poult. Sci. Conv.**, p.29-30, Sydney, Austrália.
62. ITO, N.M.K.; GAMA, N.M.S.Q.; MIYAJI, C.I.; OKABAYASHI, S.; LIMA, E.A.; PAPADOPULOS. P. Diagnóstico da laringotraqueíte infecciosa das galinhas. **Revista Brasileira de Ciência Avícola** (Brazilian Journal of Poultry Science) Suplemento 5, p. 118, 2003
63. IZUCHI, T. e HASEGAWA, A. Pathogenicity of ILT vírus as measured by chicken embryo inoculation. **Avian Diseases**, v.26, p.18-25, 1982.
64. IZUCHI, T.; HASEGAWA, A. e MIYAMOTO, T. Studies on a live virus vaccine against ILT of chickens. I. Biological properties of attenuated strain C7. **Avian Dis.**, v. 27, p.918-926, 1983.

65. IZUCHI, T.; HASEGAWA, A. e MIYAMOTO, T. Studies on a live virus vaccine against ILT of chickens. II. Evaluation of the tissue culture modified strain C7 in laboratory and field trials. **Avian Dis.**, v. 28, p.323-330, 1984.
66. JONES, R. Laringotraqueíte. *In*: Ciclo de Conferência da AVE, 1989, Porto Alegre. **Anais**, Porto Alegre, Assoc. Med. Vet. Espec. Avicultura, p.6-11, 1990.
67. JORDAN, F. T. W. Some observations of infectious laryngotracheitis. **Vet Rec** 70:605—610, 1958.
68. JORDAN, F.T.W. A review of the literature on ILT. **Avian Diseases**, v.10, p.1-26, 1966.
69. JORDAN, F.T.W. Immunity to ILT. *In*: M.E. Ross, L.N. Payne, and B.M.Freeman (ed). **Avian Immunology**. British Poultry Science Ltd, Edinburgh, Scotland, p. 245-254, 1981.
70. JORDAN, F.T.W. Infectious Laryngotracheitis. *In*: **Vírus Infectious of Birds**, Edited by J.B. McFerran and M.S. McNulty, Elsevier, Cap. 2, v.4, p.19-35, 1993.
71. KALETA, E.F.; REDMAN, TH; HEFFELS-REDMAN, U.; FRESE, K.Zum Nachweis der latenz dès atteneuirten vírus der infektiösen laryngotracheitis dès Huhnes im trigeminus ganglion. **Dtach Tuerarztl Wschr.**, v.93, p.40-42, 1986.
72. KEELER, C.L.; HAZEL, J.W.; HASTINGS, J.E.; ROSENBERGER, J.K. restriction endonuclease analysis of Delmarva field isolates of ILT virus. **Avian Dis.**, v. 37, p.418-426, 1993.
73. KELLER, K. e HEBEK, P. Diagnostico de las inclusiones de laryngotraqueitis infecciosa en frotis y cortes histológicos. **Zooiatria** (Chile), v.1, p.1, 1962.
74. KELLER, L.H.; BENSON , C.E.; DAVIDSON, S; ECKROADE, R.J. Differences among restriction endonuclease DNA fingerprints of Pennsylvania field isolates, vaccine strains and challenge strains of ILT virus. **Avian Dis.**, v.36, p.575-581, 1992.
75. KEELER, C.; Jr. POULSEN, D.; ROBINSON, H.; SANTORO, J.; THUREEN, D. Immunization of chickens with gene (DNA) vaccines. **132nd Annual Meeting of the AVMA**. Pittsburgh, PA. p. 143, 1995.
76. KERNOHAN, G. ILT in fowls. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.78, p.196-202, 1931.
77. KINGSBURY, F. W.; JUNGHER, E.L. Indirect transmission of Infectious Laryngotracheitis in chicken, v. 2, p. 54-63, 1958.
78. KIRKPATRICK, N.C.; MAHMOUDIAN, A.; O'ROURKE, D.; NOORMOHAMMADIA, A.H. Differentiation of infectious laryngotracheitis virus isolates by restriction fragment length polymorphic analysis of polymerase chain reaction products amplified from multiples genes. *Avian Dis*, v. 50, p. 335-338, 2006.
79. KOMAROV, A. e BEAUDETTE, F.R. Carriers of infectious bronchitis. **Poult. Sci.**, v.11, p.335-338, 1932.
80. KOTIW, M.; SHEPPARD, M.; MAY, J.T.; WILKS, C.R. Differentiation between virulent and avirulent strains of ILT virus by DNA: DNA hybridization using a cloned DNA marker. **Vet. Microbiol.**, v.11, p.319-330, 1986.
81. KOTIW, M.; SHEPPARD, M.; MAY, J.T.; WILKS, C.R. Differentiation of ILT vírus strain using restriction endonucleases. **Avian Diseases**, v.26, p.718-731, 1982.
82. LIEB, D.A; BRADBURY, J.M.; GASKELL, R.M.; HUGHES, C.S.; JONES, R.C. restriction endonuclease patterns of some European and American isolates of infectious laryngotracheitis virus. *Avian Dis*, v. 30, p. 835-837, 1986.
83. LIEB, D.A; BRADBURY, J.M.; HART, C.A; McCARTHY, K. Genome isomerism in two alphaherpesviruses: Herpes saimiri-1 (herpesvírus tamarinus) and avian ILT virus. **Arch. Virol.**, v.93, p.287-294, 1987.
84. LINARES, J.A; BICKFORD, A.A.; COOPER, G.L.; CHARLTON, B.R.; WOOLCOCK, P.R.; An outbreak of ILT in Califórnia broilers. **Avian Dis.**, v.38, p.188-192, 1994.
85. LUSCSHOW, D.; WERNER, O.; METTENLEITER, T.C.; FUCHS, W. protection of chickens rom

- lethal influenza A virus infection by live-virus vaccination with infectious laryngotracheitis recombinants expressing the haemagglutinin (H5) gene. *Vaccine*, v. 19, p. 4249-4259, 2001.
86. MALLINSON, E.T.; MILLER, K.F.; MURPHY, C.D. Cooperative control of ILT. **Avian Dis.**, v.25, p.723-729, 1981.
 87. MAY, H. G.; TITSLAR, R. P. Tracheolaryngotracheitis in poultry. **J. Am Vet Med Ass**, n. 67, p. 229-231, 1925
 88. McKERCHER, D.G. Laryngotracheitis. *In: Herpesviruses*, Ed. Nova York, by Academic Press, INC, p.480-493, 1973.
 89. McNULTY, M.S.; ALLAN, G.M.; McCracken, R.M. ILT in Ireland. **Irish. Vet. J.**, v.39, p.124-125, 1985.
 90. MOLGARD, P.C.; CAVETT, J.W. The feather follicle method of vaccinating with fowl laryngotracheitis vaccine. *Poult. Sci.*, v.26, p.263-267, 1947.
 91. OJKIC, D.; SWINTON, J.; VALLIERES, M.; MARTIN, E.; SHAPIRO, J.; SANEI, B.; BINNINGTON, B. Characterization of field isolates of infectious laryngotracheitis virus from Ontario. **Avian Pathol**, v. 35, p. 286-292, 2006.
 92. OKAMURA, H.; SAKAGUCHI, M.; HONDA, T.; TANENO, A; MATSUO, K.;YAMADA, S. Construction of recombinant laryngotracheitis virus expressing the lac-Z gene of E. coli with thymidine kinase gene. **J. Vet. Med. Sci.**, v.56, p.799-801, 1994.
 93. PICAULT, J.P.; GUITTET, M.; BENNEJEAN, G. Innocuite et activite de different vaccins de la laryngotracheite infectieuse aviaire. **Avian Pathol**, v. 11, p. 39-48, 1982.
 94. PRIDEAUX, C.T.; KONGSUWAN, K; JOHNSON, M.A; SHEPPARD, M.; FAHEY, K.J. Infectious laryngotracheitis virus growth, DNA replication, and protein synthesis. **Arch. Virol.**, v.123, p.181-192, 1992.
 95. PULSFORD, M.F. Epidemiology of ILT of poultry. **Aust. Vet. J.**, v.37, p.97-99, 1961.
 96. PULSFORD, M.F. Infectious Laryngotracheitis of poultry. Par I: Virus variation, immunology and vaccination . **Vet. Bull.**, v.33, p. 477-483, 1963.
 97. PULSFORD, M.F.; STOKES, J. ILT in South Australia. **Aust. Vet.**, v.29, p.8-12, 1953.
 98. PURCELL, D.A. Histopathology of ILT in fowl infected by aerosol. **J. Comp. Pathol.**, v.81, p.421-431, 1971.
 99. PURCELL, D.A. e McFERRAN, J.B. Influence of method of infection on the pathogenesis of ILT. **J. Comp. Path.**, v.79, p. 285-291, 1969.
 100. PURCELL, D.A. The ultrastructural changes produced by infectious laryngotracheitis virus in tracheal epithelium of the fowl. *Rev Vet Sci*, v. 12, p. 4550-458, 1971
 101. PURCELL, D.A e SURMAN, P.G. Aerosol administration of the AS-2 vaccine strain of ILT virus. **Aust. Vet. J.**, v. 50, p.419-420, 1974.
 102. RAGGI, L.G. e LEE, G.G. ILT outbreaks following vaccination. **Avian Dis.**, v.9, p.559-565, 1965.
 103. ROBERTSON, G.M. The role of bursa-dependent responses in immunity to ILT. **Res. Vet. Science**, v.22, p.281-284, 1977.
 104. ROBERTSON, G.M. e EGERTON, J.R. Replication of infectious laryngotracheitis virus in chickens following vaccination. **Aust. Vet.**, v.57, p.119-123, 1981.
 105. SAMBERG, Y.; CUPERSTEIN, E.; BENDHEIM, U.; ARONOVICI, I. The development of a vaccine against avian infectious laryngotracheitis. IV Immunization of chickens with modified laryngotracheitis vaccine in the drinking water. **Avian Diseases** 1971; 15:413-417.
 106. SAYF, Y.M.; ROSENBERGER, J.K.; CLOUD, S.S.; WILD, M.A.; McMILLEN, J.K.; SCHATZ, R.D. efficacy and safety of a recombinant herpesvirus of turkeys containing genes from infectious laryngotracheitis virus. *Proc Am Vet Med Assoc*, Minneapolis, MN, p. 154, 1994.
 107. SCHNITZLEIN, W.M.; WINANS, R.; ELLSWORTH, S.; TRIPATHY, D.N. Generation of

- thymidine kinase-deficient mutants of infectious laryngotracheitis virus. *Virology*, v. 209, p. 304-314, 1995
108. SINKOVIC, B e HUNT, S. Vaccination of day-old chickens against ILT by conjunctival instillation. **Aust. Vet. J.**, v.44, p.55-57, 1968.
109. SHIBLEY G.P.; LUGINBUNHL R. E.; HELMBOLDT C. F. A study of infectious laryngotracheitis virus. In: Comparison of serologic and immunogenic properties. **Avian Diseases**, v, 6, p. 59-71, 1962.
110. SINKOVIC, B. S. **Studies on the control of ILT in Australia**. Australia, PhD dissertation. University of Sydney, 1974
111. SOARES L. A. Caracterização da amostra LT-1543 do vírus da laringotraqueíte infecciosa das galinhas. Tese de Doutorado apresentada à Escola Paulista de Medicina, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, São Paulo, 1997, p. 1-61.
112. SOARES L. A.; PEREIRA, O. A. C.; HIPÓLITO. O. Characterization of the first strain of infectious laryngotracheitis virus (ILTV) in Brazil. *Revue of Microbiology*, **11 (4)**: 105-109, 1980.
113. THRUSFIELD, M. *Veterinary Epidemiology*. 3^d ed. Blackwell ed, 2005
114. THUREE, D.R.; KEELER Jr, C;L. Psittacid Herpesvirus I and infectious laryngotracheitis virus: Comparative genoma sequence analysis of two avian alphaherpesviruses. *J. Virol*, v. 80, p. 7863-7872, 2006.
115. TIMURKAAN, N.; YILMAZ, F.; BULUT, H.; OZER, H.; BOLAT, Y. Pathological and immunohistochemical finding in broilers inoculated with a low virulent strais of infectious laryngotracheitis virus. *J Vet Sci*, v. 4, p. 175-180, 2003.
116. TONG, G.S.; ZHANG, S.; MENG, S.; WANG, L.; QUI, H.; WANG, Y.; YU, L.; WANG, M. protection of chicken from infectious laryngotracheitis with a recombinant fowlpox virus expressing glycoprotein B of infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathol*, v. 30, p. 143-148, 2001.
117. TRIPATHY, D.N. e HANSON, L.E. Laryngotracheitis. *In*: H.G. Purchase, L.H. Arp, C.H. Domermuth, and J.E. Pearson (eds). **A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens**, 3 rd ed. American Association of Avian Pathologists, Kennet Square, PA, p. 85-88, 1989.
118. TURNER, A.J. Persistence of virus in respiratory infections of chickens. **Aust. Vet. J.**, v.48, p.361-363, 1972.
119. TYZARD, I.R. **Imunologia Veterinária, uma introdução**. 6^a Ed., Rocca: São Paulo, 2002, 532p.
120. VANDERKOOP, M.A. Infectious laryngotracheitis in commercial broiler chickens. *Aust Vet J*, v. 34, p. 185, 1993.
121. VARGAS, R.E.S. Laringotraqueíte infecciosa das aves: estudo sorológico em plantéis avícolas no Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1995. 110p. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Veterinária. UFRS.
122. VEITS, J.; LUSCHOW, D.; KINDREMANN, K.; WERNER, O.; TEIFKE, J.P.;METTENLEITER, T.V.; FUCHS, W. Deletion of the non-essential UL0 gene of infectious laryngotracheitis (ILT) virus leads to atenuation in chickens, and UL0 mutants expressing influenza vírus haemagglutinin (H7) protect against ILT and fowl plague. *J. Gen Virol*, v. 84, p. 3343-3352, 2003a.
123. VEITS, J.; METTENLEITER, T.V.; FUCHS, W. Five unique open reading frames of infectious laryngotracheitis virus are expressed during infection but are dispensible for virus replication in cell culture. *J. Gen Virol*, v. 84, p. 1415-1425, 2003b.
124. VILLARREAL, L. Y. B.; BRANDÃO, P. E. B.; CHACÓN, J. L.; DORETTO JUNIOR, L.; ITO, N.; GAMA, N.S.; ISHIZUKA, M. M.; LUCHESE, A.; BUCHALA, F.; ASTOLFI-FERREIRA, C. S.; FERREIRA, A. J. P. Detection and molecular characterization of infectious laryngotracheitis virus in laying hens in Brazil. **Rev. Bras. Cienc. Avic.** v. 6 n. 4 Campinas Oct./Dec. 2004
125. WEBSTER, R.G. Studies on infectious laryngotracheitis in New Zealand. **NZ Vet. J.**, v.7, p.67-

71, 1959.

126. WILLIAMS, RA.; BENNET, N.; BRADBURY, J.M.; GASKELL, R.M.; JONES, R.C.; JORDAN, F.T.W. Demonstration of sites of latency of infectious laryngotracheitis virus using the polymerase chain reaction. **J. Gen. Virol.**, v.73, p.2415-2420, 1992.
127. YORK, J.J. e FAHEY, K.J. Humoral and cell-mediated immune responses to the glycoproteins of ILT herpesvirus. **Arch. Virol.**, v.115, p.289-297, 1990.
128. YORK, J.J. e FAHEY, K.J. Vaccination with affinity-purified glycoproteins protects against ILT herpesvirus. **Avian Pathol.**, v. 20, p.693-704, 1991.
129. YORK, J.J.; YOUNG, J.G.; FAHEY, K.J. The appearance of viral antigen and antibody in the trachea of naive and vaccinated chickens infected with ILT virus. **Avian Pathol.**, v.18, p.643-658, 1989.
130. WALDMAN R. H.; GANGULY R. Immunity to infections on secretory surfaces. **Journal of Infectious Diseases.** 1974. 130: 419-440.
131. YORK, J. J. e FAHEY, K. J. Humoral and cell-mediated immune responses to the glycoproteins of ILT herpesvirus. **Arch.Virol.**, v. 115, p. 289-297,1990.
132. YORK, J. J; YOUNG, J. G.; FAHEY, K. J. The appearance of viral antigen and antibody in the trachea of naïve and vaccinated chickens infected with ILT virus. **Avian Pathol.** v. 18, p. 643-658, 1989.
133. THRUSFIELD, M.; CHRISTLEY, R.; et al, *Veterinary Epidemiology*. Ed. Willey-Blackwell, 864p, 2018.