

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE
Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal



Dissertação

**FATORES ASSOCIADOS ÀS FALHAS NA IMUNIZAÇÃO CONTRA O VÍRUS DA
ENCEFALOMIELE AVIÁRIA EM CADEIAS PRODUTIVAS DE AVICULTURA DE CORTE**

Keila Catarina Prior

Concórdia, 2021

Keila Catarina Prior

**FATORES ASSOCIADOS ÀS FALHAS NA IMUNIZAÇÃO CONTRA O VÍRUS DA
ENCEFALOMIELE AVIÁRIA EM CADEIAS PRODUTIVAS DE AVICULTURA DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

Orientador: Dr. Diogenes Dezen

Concórdia, 2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

P958f PRIOR, Keila Catarina
Fatores associados às falhas na imunização contra o
vírus da encefalomielite aviária em cadeias produtivas
de avicultura de corte / Keila Catarina PRIOR;
orientador Diogenes Dezen. -- Concórdia, 2021.
29 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Concórdia, Mestrado Profissional
em Produção e Sanidade Animal, Concórdia, 2021.

Inclui referências.

1. Encefalomielite. 2. Falha Vacinal. 3.
Avicultura de Corte. 4. Imunidade. 5. ELISA. I.
Dezen, Diogenes. II. Instituto Federal Catarinense.
Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal.
III. Título.

Keila Catarina Prior

**FATORES ASSOCIADOS ÀS FALHAS NA IMUNIZAÇÃO CONTRA O VÍRUS DA
ENCEFALOMIELE AVIÁRIA EM CADEIAS PRODUTIVAS DE AVICULTURA DE CORTE**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

Data da Defesa: 29/07/2021

Banca examinadora:

Prof. Dr. Diogenes Dezen (Orientador)

Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense

Pesquisadora Iara Maria Trevisol

Mestre em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Instituição de vínculo: Embrapa Suínos e Aves

Profa. Dra. Alessandra Faria Millezi

Doutora em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Lavras

Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense



Emitido em 29/07/2021

DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI Nº 13/2021 - PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)
(Nº do Documento: 1)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 25/08/2021 16:51)

DIOGENES DEZEN

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO

CPESIN/CON (11.01.04.14)

Matricula: 1756086

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número: **1**,
ano: **2021**, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI**, data de emissão: **25/08/2021**
e o código de verificação: **ee157ec526**

Agradecimentos

À Deus por iluminar o meu caminho, e por me dar forças para encarar os momentos de dificuldade.

À minha família, pelo total apoio e compreensão ao longo da jornada.

À empresa pelo fornecimento dos dados dos últimos 5 anos, sem eles o trabalho não seria possível.

Aos docentes do curso pelo conhecimento compartilhado, sempre de maneira clara e com excelente qualidade.

Ao Instituto Federal Catarinense pela oportunidade de cursar o Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal.

À professora Vanessa Peripolli por todo o suporte ao trabalho, principalmente em relação a parte estatística.

Ao meu orientador, Professor Diogenes Dezen, pela paciência e apoio de sempre ao longo de todos esses anos.

Resumo

PRIOR, Keila. **FATORES ASSOCIADOS ÀS FALHAS NA IMUNIZAÇÃO CONTRA O VÍRUS DA ENCEFALOMIELE AVIÁRIA EM CADEIAS PRODUTIVAS DE AVICULTURA DE CORTE**. 2021. 29f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2021.

A Encefalomielite Aviária (EA), é caracterizada como uma doença que acomete galinhas, perus, codornas e faisões. Em animais jovens, costuma causar sinais neurológicos como ataxia e tremores. Nas aves de postura, manifesta-se com queda acentuada na produção de ovos e baixa eclodibilidade. O objetivo deste trabalho foi identificar fatores que influenciam na ocorrência de falhas vacinais para EA, em cadeias produtivas de avicultura de corte. Para isso, foram analisadas informações de um banco de dados de 65.535 amostras de soro de aves, colhidas ao longo dos anos de 2015 à 2019 e testadas através do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) indireto. Avaliou-se informações como: *status* imunitário, idade das aves, ano de coleta da amostra, tipo de cadeia produtiva, cidade de origem e fases de postura de ovos. A avaliação dos dados foi realizada por análises de qui-quadrado, análise de variância e razão de probabilidade (*odds ratio*). Foi possível determinar diferença estatística entre a frequência de animais soroprotetidos e o tipo de cadeias produtivas, idade das aves, bem como dentro da cadeia de matrizes, onde observou-se que algumas localidades apresentaram 2,10 vezes mais chances de apresentar aves não protegidas contra EA, evidenciando possíveis problemas de manejo. Além disso, verificou-se que houve uma melhora progressiva na imunidade dos plantéis ao longo dos anos e que as fases pré-postura e início de postura, são as que apresentam melhores índices de imunidade humoral para EA em relação as demais. O presente estudo, demonstrou que vários fatores podem estar envolvidos com as falhas de proteção vacinal para EA, e que ações são necessárias para melhorar a resposta humoral.

Palavras-chave: avicultura de corte; encefalomielite; falha vacinal; imunidade; ELISA.

Abstract

PRIOR, Keila. **FACTORS ASSOCIATED WITH FAILURES IN THE IMMUNIZATION AGAINST THE AVIAN ENCEPHALOMYELITIS VIRUS IN PRODUCTIVE CHAINS OF POULTRY FARMING.** 2021. 29f. Dissertation (Master degree in Science) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2021.

Avian Encephalomyelitis (AE) is characterized as a disease that affects chickens, turkeys, quails and pheasants. In young animals, it usually causes neurological signs, such as ataxia and tremors. In laying birds, it manifests itself with a sharp drop in egg production and low hatchability. The objective of this work was to identify factors that influence the occurrence of vaccine failures for AE in production chains of poultry farming. For this, information from a database was analyzed of 65,535 bird serum samples, collected from 2015 to 2019 and tested through the indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Information such as: immune status, age of birds, year of sample collection, type of productive chain, city of origin and egg laying phases were evaluated. Data evaluation was performed using chi-square analyses, analysis of variance and odds ratio. It was possible, to determine that there is a statistical difference, between frequency of seroprotected animals and the type of production chains in relation, the age of the birds, as well as within the matrices chain, where some geographical areas exhibited 2,10 times more chances to present non-protected birds against AE, showing possible management problems. Furthermore, it was found that, there was a progressive improvement in flock's immunity over the years and that the pre-posture and onset posture phase are the ones with the higher humoral immunity rates for AE compared to the others. The present study demonstrated that several factors may be involved with vaccine failures for AE, and actions are necessary to improve the humoral response.

Keywords: poultry farming; encephalomyelitis; vaccine failure; immunity; ELISA.

Lista de Figuras

Figura 1	Razão de probabilidade de falha de cobertura vacinal comparando-se as cinco cidades com maior volume de amostras analisadas.	21
Figura 2	Razão de probabilidade de falhas vacinais entre as cadeias produtivas	22
Figura 3	Razão de probabilidade entre as fases de produção das matrizes de frango.	23
Figura 4	Razão de probabilidade de falhas vacinais ao longo dos anos 2015 a 2019.	24

Lista de Tabelas

Tabela 1	Frequência de aves com falha de cobertura vacinal em relação a aves imunizadas, com avaliação de cadeia produtiva, ano e cidade de origem.	18
Tabela 2	Análise de variância para a idade das aves das diferentes cadeias produtivas.	20

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE	9
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	Geral.....	13
2.2	Específicos.....	13
3	FATORES ASSOCIADOS ÀS FALHAS NA IMUNIZAÇÃO CONTRA O VÍRUS DA ENCEFALOMIELITE AVIÁRIA EM CADEIAS PRODUTIVAS DE AVICULTURA DE CORTE	14
3.1	Introdução	15
3.2	Material e Métodos	16
3.3	Resultados e Discussão	17
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
5	REFERÊNCIAS.....	26

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

O agente etiológico da encefalomielite aviária (EA) é o vírus da encefalomielite aviária (AEV), um vírus RNA fita simples de polaridade positiva, do gênero *Tremovirus* e da família *Picornaviridae*, possui capsídeo icosaédrico e não-envelopado (ZELL et al, 2017). Seu genoma é composto de 7.058 pares de bases, codificando para quatro proteínas estruturais da região P1 e sete não-estruturais da região P2 e P3 (CALNEK, 2008; GOTO et al., 2019). O AEV, possui resistência em relação ao clorofórmio, ácidos, DNAses, tripsina e pepsina. No entanto, é considerado sensível a uma única aplicação de formaldeído por meio da fumigação (IDE, 1979; TANNOCK & SHAFREN, 1994).

O vírus possui um único sorotipo conhecido, porém algumas cepas variam em grau de patogenicidade. Sabe-se que todas as cepas de campo, possuem tropismo pelas células intestinais, sendo denominadas enterotrópicas (SHAFREN & TANNOCK, 1991; HAUCK et al, 2017). Entretanto, as mais patogênicas, são também neurotrópicas, atingindo principalmente, a região do sistema nervoso central dos pintainhos e causando os sinais clínicos que caracterizam essa enfermidade (BACK, 2010; SENTIES-CUE et al., 2016).

A EA foi descrita pela primeira vez em 1932, através de um relato de caso, onde os sinais clínicos das aves foram caracterizados como, tremor rápido de cabeça e pescoço, associado a ataxia em alguns animais (JONES, 1932). Em 1934, a doença foi reproduzida de maneira experimental em pintainhos, realizando uma inoculação intracerebral com o filtrado de cérebro de aves infectadas (JONES, 1934). Posteriormente, a doença foi relatada na Europa, Canadá, Japão e Austrália (TANNOCK & SHAFREN, 1994). No Brasil, foi relatada pela primeira vez em 1964 no estado de São Paulo, em amostras de cérebro e medula de pintainhos (BUENO et al., 1964) e, posteriormente em 1972, nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo (SILVA et al., 1972).

A enfermidade acomete galinhas, faisões, codornas, pombos e perus e é economicamente importante mundialmente (CALNEK, 2008; SENTIES-CUE et al., 2016; FAN et al., 2017). A infecção ocorre majoritariamente pela via fecal-oral, através da ingestão de ração, fezes ou água contaminadas. Após a ingestão, o vírus replica-se no intestino, principalmente na porção do duodeno e entra na corrente sanguínea, geralmente pelas placas de Peyer, fazendo viremia, atingindo vários órgãos e tecidos como sistema nervoso central, fígado, coração, rins, proventrículo, moela, baço, pâncreas e músculo esquelético

(TANNOCK & SHAFREN, 1994; CALNEK, 2008; SENTIES-CUE et al., 2016; FAN et al, 2017). Contudo o AEV faz também transmissão vertical, sendo importante fonte de contaminação dos pintainhos (CALNEK et al., 1960; CALNEK, 2008; YU et al, 2015). Em animais jovens, a manifestação da doença geralmente ocorre entre um e sete dias de idade, sendo que os pintainhos acometidos acabam se tornando uma importante fonte de infecção para os demais e assim, por volta dos 11 dias de idade das aves, acaba acontecendo uma segunda onda da doença devido à transmissão no lote (JONES, 1932; JONES, 1934; MARVIL et al., 1999; ROY et al., 2009;).

Os sinais clínicos observados nos pintainhos são tremores na cabeça e no pescoço, ataxia, que progride até o filhote ser incapaz de locomover-se, conseqüentemente, não consegue mais se alimentar, ocorrendo assim, prostração seguida de morte. As aves adultas em geral, não apresentam sinais neurológicos e sim queda temporária na produção de ovos de 5 a 10%, aproximadamente 11 dias após sofrerem a infecção (CALNEK, 1998; MARVIL et al., 1999). Aves que apresentam sinais clínicos brandos, podem se recuperar e não apresentarem considerável prejuízo na produção de ovos (SENTIES-CUE et al., 2016). É relatado, em algumas aves sobreviventes, o desenvolvimento da perda de transparência do cristalino, entre 18 e 20 semanas de idade (PECKHAM, 1957). Em aves jovens, a taxa de morbidade é de 40 a 60% e a taxa de mortalidade é em média de 25%, podendo ultrapassar 50% (GOTO et al., 2019).

Lesões macroscópicas em aves acometidas são de difícil visualização, mas podem ser detectadas áreas puntiformes nos músculos, bem como no proventrículo e na moela, além de opacidade do cristalino (CALNEK, 2008; BACK, 2010). Já em relação, às lesões microscópicas, observa-se, encefalomielite não-supurativa, bem como infiltrado linfocitário perivascular em todas as porções do cérebro e medula espinhal (CALNEK, 2008; MARTINS & SILVA, 2009; SUAREZ, 2013).

Os métodos de diagnóstico dessa doença incluem isolamento viral, utilizando pintos de 1 dia, onde realiza-se inoculação intracerebral do preparado da amostra ou inoculação no saco vitelino de ovos embrionados (TANNOK & SHAFREN, 1994) e os ensaios sorológicos (SMART et al.,1986). Com relação aos exames sorológicos há disponibilidade de realização por teste de hemaglutinação, fixação de complemento, imunofluorescência, virusneutralização (AHMED et al., 1982) e ELISA, sendo o último um dos métodos mais empregados para realização de monitoria vacinal nos plantéis (CALNEK & JEHNICH, 1959;

SMART & GRIX, 1985; SENTIES-CUE et al., 2016). Alguns estudos utilizando reação de transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia de polimerase (RT-PCR), já foram desenvolvidos e utilizados por alguns autores em pesquisas científicas e poderiam ser utilizados como método diagnóstico (XIE et al., 2005, HAUCK et al., 2017; DE LA TORRE et al, 2018; GOTO et al., 2019).

Não há tratamento satisfatório para surtos agudos de EA em aves jovens, contudo, a doença vem sendo controlada através da imunização das matrizes. Tal medida é a forma mais efetiva de prevenção da doença (SUAREZ, 2013). Atualmente existem no mercado ao menos cinco diferentes tipos de vacinas, como a Nobilis® AE-POX (MSD), Poxiblen® (Boehringer-Ingelheim), Tremor Vet® (BioVet), Poximune® AE (Ceva) e Poxine® AE (Zoetis). As vacinas, em geral, são preparadas a partir do cultivo e atenuação do vírus, por passagem em ovos embrionados e se estas forem administradas na idade apropriada, não apresentam potencial patogênico para as aves (MARVIL et al., 1999).

Os protocolos de vacinação são aplicados na imunização das matrizes, no período de recria. A vacinação é preconizada a partir das oito semanas de idade, pois se administrada anteriormente, a vacina pode induzir sinais clínicos, e no máximo quatro semanas antes do pico de produção de ovos, sendo administrada de maneira injetável, na membrana da asa, ou via água de bebida (CALNEK, 2008; MATEUS & SANTOS, 2011; SUAREZ, 2013;).

Além disso, a vacinação das matrizes acaba contribuindo para a imunização da prole. A imunidade passiva permite a transferência de anticorpos para a progênie via saco vitelínico, garantindo a imunidade humoral, e desse modo, mantendo os pintainhos protegidos por aproximadamente uma à duas semanas após o nascimento, além de prevenir a queda de postura para as matrizes (CALNEK, 2008; BACK, 2010; SUAREZ, 2013).

Todavia, tal medida por si só não é suficiente, haja vista que 58 casos foram confirmados no período de 2011 a 2013 no Brasil, o que deixou o setor avícola em estado de alerta (FREITAS & BACK, 2015). No período de 2006 a 2015, De La Torre et al. (2018) diagnosticaram surtos de EA em frango de corte, nos estados de São Paulo, Paraná, Goiás, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Ainda, no ano de 2019, ocorreu um surto de EA, em uma granja comercial de galinhas poedeiras no estado de Pernambuco. A granja possuía 350.000 aves e boas práticas de biossegurança, bem como realizava imunização de todas as aves na 10ª semana de idade. O surto atingiu cerca de 30.600 aves, desde os pintainhos até as

galinhas poedeiras, as quais apresentaram sinais clínicos característicos e lesões compatíveis (ROCHA et al., 2019).

Apesar da vacinação das aves, ser um importante método de controle da doença, é comum, ocorrerem falhas nesse processo, sendo que, diversos podem ser os fatores envolvidos, como por exemplo, a forma de armazenamento da vacina, o preparo, a forma de administração, a qualidade da água e o consumo pelas aves (se essa for por administração via água de bebida) (DE LA TORRE et al., 2018; MATEUS & SANTOS, 2011), além é claro, dos fatores imunossupressores que podem estar presentes no ambiente (CORRIER & DELOACH, 1990; DOHMS & METZ, 1991). As falhas vacinais podem ser frequentes, por isso a importância da realização do monitoramento sorológico dos plantéis e ajustes nos protocolos de vacinação para obtenção de melhores resultados (MATEUS & SANTOS, 2011; FREITAS & BACK, 2015).

A monitoria dos plantéis, deve ser realizada entre quatro e seis semanas após a vacinação, ou seja, após a soroconversão nas aves. Em geral utiliza-se, a técnica de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), pois é uma técnica rápida, de fácil execução, de boa sensibilidade e especificidade e, os resultados obtidos são de grande relevância para auxílio na tomada de decisões, permitindo evidenciar falhas na imunização e realizar reforços vacinais (MARTINS & SILVA, 2009; SUAREZ, 2013).

A monitoria realizada através da técnica de ELISA, é baseada na detecção de anticorpos presentes no soro das aves, sendo denominado ELISA indireto (AYDIN, 2015). Os níveis de anticorpos detectados contra EA são categorizados em até 18 grupos, baseados na titulação obtida, com valores entre 0 e 32.000, sendo que títulos maiores do que 396, obtidos no “Kit Avian Encephalomyelitis Virus Antibody Test – IDEXX”, classificam o resultado como positivo, indicando que a ave teve contato com o vírus ou foi imunizada, sendo que, quanto maior esse valor, maior é a proteção das aves frente ao vírus (IDEXX, 2019a; IDEXX, 2019b).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Identificar fatores que influenciam na proteção vacinal contra o vírus da encefalomielite aviária, nas principais cadeias produtivas de avicultura de corte.

2.2 Específicos

- Estabelecer em qual extrato das cadeias produtivas de avicultura de corte ocorre menor frequência de proteção vacinal;
- Determinar se existe variação do perfil vacinal ao longo do período analisado;
- Identificar quais áreas geográficas possuem problemas na cobertura vacinal;
- Verificar em qual idade das aves a imunização demonstra menor e maior proteção vacinal.

3 FATORES ASSOCIADOS ÀS FALHAS NA IMUNIZAÇÃO CONTRA O VÍRUS DA ENCEFALOMIELITE AVIÁRIA EM CADEIAS PRODUTIVAS DE AVICULTURA DE CORTE

Manuscrito a ser submetido ao periódico Ciência Rural

<http://coral.ufsm.br/ccr/cienciarural/index.htm>

PRIOR, K.¹, PERIPOLLI, V.², DEZEN, D.³

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal;

² Docente do Instituto Federal Catarinense – Campus Araquari;

³ Docente do Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia.

3.1 Introdução

A encefalomielite aviária ou tremor epidêmico é uma doença infecciosa causada por um picornavírus do gênero *Tremovirus* que acomete galinhas, perus, codornas e faisões (BAKHSHEH et al., 2008; CALNEK, 1998; TANNOCK & SHAFREN, 1994; ZELL et al., 2017). Em geral, afeta animais de uma a três semanas de idade, causando ataxia, tremores rápidos e alta taxa de mortalidade (SUAREZ, 2013; FREITAS & BACK, 2015). Em aves de postura induz a queda acentuada na produção de ovos e redução na taxa de eclodibilidade (SENTIES-CUE et al., 2016; TANNOCK & SHAFREN, 1994). A transmissão ocorre vertical e horizontalmente, esta última através da água, ração e fezes contaminadas (YU et al., 2015; BACK, 2010).

A medida preventiva mais eficaz contra o vírus é a vacinação da matriz no período de crescimento, evitando desta forma a transmissão vertical. Além disso, os pintainhos oriundos dessas matrizes, permanecem protegidos durante as primeiras semanas de vida, as quais eles são mais suscetíveis a infecção pelo vírus da encefalomielite aviária (FREITAS & BACK, 2015; ROY et al., 2009).

Apesar da vacinação das reprodutoras ser uma importante forma de controle da doença, alguns estudos apontam a ocorrência de surtos mesmo em aves imunizadas (FREITAS & BACK, 2015; ROCHA et al., 2019). Neste sentido, ferramentas de monitoramento que permitam medir a imunidade em plantéis, bem como a associação de medidas de biossegurança nas granjas, são pontos importantes na prevenção desta enfermidade (FREITAS & BACK, 2015). Em geral, o monitoramento sorológico para encefalomielite aviária, ocorre entre quatro a seis semanas após a vacinação, sendo a técnica de ELISA, a mais frequentemente empregada devido à rapidez na produção dos resultados (MARTINS & SILVA, 2009). Além disso, através desta, é possível determinar os títulos de anticorpos, com boa especificidade e sensibilidade, o que corrobora o uso da técnica como uma importante ferramenta na avaliação da eficácia da vacinação em aves (SMART AND GRIX, 1985; AYDIN, 2015; SENTIES-CUE et al., 2016).

Além das falhas relacionadas a vacinação, outros fatores podem estar envolvidos com o aparecimento da doença nas aves, uma vez que a vacinação é realizada na fase de recria, onde realiza-se restrição alimentar, para que as aves se mantenham em uma faixa restrita de peso e a fertilidade seja favorecida. Além disso, é frequente nesta fase, as aves apresentarem coccidiose, bem como outras enterites, tais situações que podem ocasionar

um quadro de imunodepressão nas aves e afetar a resposta à imunização (CORRIER & DELOACH, 1990; DOHMS & METZ, 1991). Bem como os fatores de estresse como temperatura ambiente inadequada, alta densidade populacional e má qualidade da água de bebida, agentes virais e micotoxinas, provocam imunodepressão e podem acabar interferindo na vacinação (MATEUS & SANTOS, 2011; ROCHA et al, 2014; DE LA TORRE ET AL., 2018).

Portanto, o objetivo desse estudo, foi determinar os possíveis fatores que influenciam nas falhas de proteção vacinal, para encefalomielite aviária, nas principais cadeias produtivas de avicultura de corte.

3.2 Material e Métodos

Dados de 65.535 amostras, de soro colhido de aves de corte, foram compilados a partir de um banco de dados, disponibilizado por uma agroindústria localizada no estado de Santa Catarina. As amostras foram estratificadas nos seguintes grupos: a) idade das aves (semanas); b) status imunitário obtido no teste de ELISA frente ao vírus da encefalomielite aviária (positiva ou negativa para níveis protetores de anticorpos anti-AEV); c) ano da coleta da amostra (2015 a 2019); d) tipo de cadeia produtiva (avozeiras, matrizes ou frango de corte); e) origem da amostra (município A ao R); e para a cadeia de matrizes de corte realizou-se ainda a estratificação em; f) fases de produção: pré-postura (≥ 18 e < 24 semanas de idade), início de postura (≥ 24 e < 29 semanas), pico de postura (≥ 29 e < 31 semanas), meia-vida (≥ 31 e < 60 semanas) e final de postura (≥ 60 semanas).

O protocolo de vacinação adotado pela empresa, compreende a vacinação das aves entre 8 e 12 semanas de idade. Realiza-se monitoria vacinal dos plantéis imunizados com aproximadamente 18 semanas, utilizando-se o ELISA indireto, kit “Avian Encephalomyelitis Virus Antibody Test – IDEXX”, o qual classifica os títulos sorológicos obtidos em 18 grupos, sendo que, quanto maior o valor numérico do grupo, maior a concentração de anticorpos no soro sanguíneo. De maneira geral, foram avaliadas 15 amostras por lote na cadeia produtiva de matrizes e 25 amostras por lote na cadeia de avós. Enquanto a avaliação da imunidade passiva nos frangos de corte, ficou a critério do sanitário responsável. As amostras foram avaliadas individualmente, seguindo as orientações do fabricante do kit. No caso da presença de avozeiras ou matrizes classificadas no grupo zero realizou-se um reforço vacinal

no lote e, uma nova monitoria sorológica para verificar a eficácia da vacinação. Utilizou-se para a imunização, uma vacina de vírus vivo atenuado, produzida em ovos, com administração via água de bebida.

Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística, utilizando o programa SAS (Analysis System Institute, Cary, NC, USA, versão 9.3), onde realizou-se a análise de qui-quadrado entre resultados positivos (grupos um ao dezoito) e negativos (grupo zero) no teste de ELISA, utilizando-se os parâmetros de localização de origem da amostra, cadeia produtiva e ano. Já para comparação de resultados positivos e negativos em relação a idade das aves realizou-se a análise de variância, utilizando o procedimento NPAR1WAY. Realizou-se também, a análise de razão de probabilidade (*odds ratio*), para identificar qual localização, cadeia produtiva, idade produtiva das matrizes e ano demonstraram maior razão de chance de apresentar indivíduos no grupo zero.

3.3 Resultados e Discussão

Comparando os dados entre as cadeias produtivas, observou-se que na cadeia de frango de corte, a proporção de animais não protegidos (grupo zero) foi significativamente maior do que de animais com algum nível de proteção ($P = <0,0001$), conforme demonstrado na tabela 1. Enquanto para avozeiros a variação entre grupos não foi significativa. Já na cadeia de matrizes, a proporção de animais com algum grau de imunidade contra o AEV, foi superior à do grupo zero. Isso se deve ao fato que as monitorias sorológicas na cadeia de matrizes são mais frequentes, quando comparadas a cadeia de avós, o que faz com que as falhas da cobertura vacinal sejam regularmente detectadas e tratadas.

Já em relação aos frangos de corte, a frequência de falhas vacinais é superior, visto que estes não são vacinados e a imunidade que eles possuem é apenas de origem passiva, que tem curta durabilidade após o nascimento, portanto, ou as matrizes apresentavam falhas vacinais e não foram capazes de transferir a proteção imunológica, ou as monitorias nos pintainhos foram realizadas tardiamente (FREITAS & BACK, 2015; ROCHA et al., 2019)

A análise temporal das monitorias, revelou diferença estatisticamente significativa ($P = <0,0001$) entre o grupo de animais não-protegidos dos que apresentaram algum nível de proteção. Nos anos 2015 e 2016, observou-se que proporcionalmente a cobertura vacinal é menor, enquanto nos anos subsequentes verificou-se o oposto.

Ainda, em relação a origem das aves, a diferença foi significativa ($P = <0,0001$) nas cidades identificadas como B, F e M, sendo que B e F tiveram mais problemas de falhas na cobertura vacinal e M foi a que teve os melhores resultados quanto à imunização (tabela 1).

Tabela 1: Frequência de aves com falha de cobertura vacinal em relação a aves imunizadas, com avaliação de cadeia produtiva, ano e cidade de origem.

	Percentual de amostras negativas - grupo zero (n)	Percentual de amostras positivas - grupos 1-18 (n)	Pr > F
CADEIA PRODUTIVA			
Frango	23,51 (1.446)	9,12 (5.417)	
Matriz	59,60 (3.666)	74,32 (44.135)	<0,0001
Avó	16,89 (1.039)	16,56 (9.832)	
ANO			
2015	13,25 (815)	6,44 (3.827)	
2016	19,95 (1.227)	13,60 (8.074)	
2017	23,95 (1.473)	26,89 (1.473)	<0,0001
2018	23,77 (1.462)	25,25 (14.996)	
2019	19,09 (1.174)	27,82 (16.519)	
CIDADE DE ORIGEM			
A	0,72 (44)	0,61 (360)	
B	8,44 (519)	3,78 (2.243)	
C	1,32 (81)	1,08 (642)	
D	2,80 (172)	2,07 (1.231)	
E	1,06 (65)	0,07 (40)	
F	8,06 (496)	3,17 (1.880)	
G	0,05 (3)	0,05 (27)	
H	2,96 (182)	1,27 (756)	
I	19,77 (1.216)	16,02 (9.513)	<0,0001
J	2,05 (126)	2,83 (16.831)	
K	21,79 (1.340)	25,00 (14.845)	
L	0,15 (9)	0,10 (60)	
M	3,76 (231)	8,08 (4.798)	
N	10,44 (642)	13,18 (7.828)	
O	6,32 (389)	6,21 (3.686)	
P	0,15 (9)	0,19 (111)	
Q	7,27 (447)	10,27 (6.099)	
R	2,93 (180)	6,03 (3.582)	

Pr > F: probabilidade.

Diferenças significativas de falhas vacinais entre as unidades, bem como ao longo dos anos, podem estar relacionadas a forma de armazenamento ou de administração das vacinas. Segundo Mutinda et al. (2014), houve uma associação, entre o armazenamento da vacina para imunização contra doença de Gumboro e surto dessa mesma enfermidade por falha vacinal. Além disso, Mutinda et al. (2014), citam sobre as falhas relacionadas ao treinamento da equipe que realiza a aplicação da vacina, para que o procedimento seja realizado da maneira correta.

Para a análise de variância da idade das aves, observou-se que a idade média de frangos de corte com proteção vacinal para AEV é de 2,32 semanas (Tabela 2); entretanto, para o outro grupo a média sobe para 2,69 semanas. Tal resultado é esperado, uma vez que a imunidade passiva nas aves, geralmente possui uma duração de uma ou duas semanas de vida, nos pintainhos, e reduz progressivamente até a 4ª semana (SHARMA, 1999). Na cadeia produtiva de matrizes de frango, as falhas de cobertura vacinal concentraram-se na idade de 18,13 semanas, enquanto com 19,90 começam a apresentar imunidade significativa. Como geralmente a primeira coleta para exame sorológico é realizada com 18 semanas, a maioria das falhas vacinais é identificada nesse período. O aumento da imunidade com aproximadamente 20 semanas, possivelmente é reflexo dos reforços vacinais em que a necessidade foi identificada em coletas anteriores as 18 semanas. Na cadeia de avós, a diferença entre aves com falhas na cobertura vacinal e aves imunizadas, encontra-se entre 13,02 e 14,34 semanas, respectivamente. A vacinação na cadeia produtiva de avós é realizada de 8 a 12 semanas, é possível que vacinações mais próximas a oitava semana sejam menos eficazes em relação a vacinações mais tardias ou que as coletas sorológicas estão sendo realizadas antes do período de soroconversão (tabela 2).

Tabela 2: Análise de variância para a idade das aves das diferentes cadeias produtivas.

IDADE (SEMANAS)			
	Percentual de amostras negativas - grupo zero (n)	Percentual de amostras positivas - grupos 1-18 (n)	Pr > F
Frango de Corte	2,69 (1446)	2,32 (5417)	<0,0001
Matrizes	18,13 (3666)	19,90 (44135)	<0,0001
Avós	13,02 (1039)	14,34 (9832)	<0,0053

Pr > F: probabilidade.

De acordo com Mateus & Santos (2011), um fator como a idade, é um interferente na qualidade da resposta vacinal. Na vacinação de frangos de corte para bronquite infecciosa com animais entre 6 e 10 dias de idade, a eficácia vacinal é menor e ainda pode ocasionar sinais clínicos como conjuntivite e leves manifestações respiratórias.

O teste de razão de probabilidade demonstrou que no grupo de matrizes, comparando as 5 das 18 cidades com maior número de amostras (I, K, M, N e Q), a cidade K, teve 2,10 vezes mais chance de ter amostras no grupo zero do que a cidade M, evidenciando, que possivelmente possa estar ocorrendo alguma falha de manejo nessa localidade, como a manipulação incorreta da vacina, estresse excessivo das aves, não conformidade do programa de vacinação estabelecido e/ou deficiência nutricional das aves (MATEUS & SANTOS, 2011; ROCHA et al., 2014; DE LA TORRE et al., 2018). Além disso a cidade I possui 1,69 vezes mais chance de possuir aves com falha de imunização do que a cidade M, bem como a cidade K tem 1,24 vezes mais chance que a cidade I. Observou-se que a unidade K, possui mais chance de apresentar amostras com falhas de cobertura vacinal, em relação às outras 4 unidades comparadas. Bem como, a cidade M é que a tem maior probabilidade de apresentar aves imunizadas em relação as demais (Figura 1).

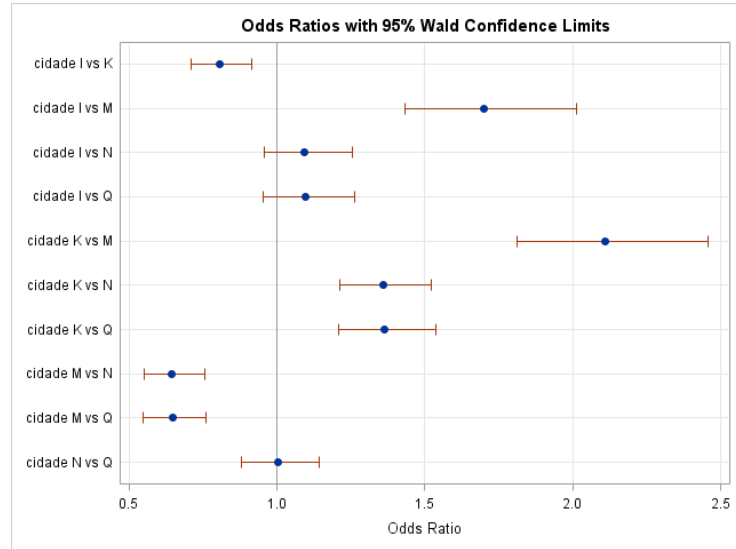


Figura 1: Razão de probabilidade de falha de cobertura vacinal comparando-se as cinco cidades com maior volume de amostras analisadas.

O teste de razão da probabilidade em relação as cadeias produtivas, evidenciou que a cadeia de avós, tem 1,27 vezes mais chance de apresentar falhas de cobertura vacinal do que a cadeia de matrizes de frango; que a cadeia de frango de corte tem 3,21 vezes mais chance que a cadeia de matrizes e 2,52 mais do que as avós (Figura 2). A cadeia de frango de corte possui maiores chances de apresentar ausência imunidade protetora, visto que, nessa cadeia não se realiza a vacinação, uma vez que a imunidade do pintinho é adquirida passivamente (CALNEK 2008; SUAREZ, 2013). A vacinação não é realizada em frangos de corte, visto que a vacina para EA não é recomendada em aves com menos de 8 semanas de idade, pois podem vir a apresentar sinais clínicos da doença (CALNEK 2008; MARTINS & SILVA, 2009; SUAREZ, 2013). Já a cadeia produtiva de matrizes de frango, possui uma melhor resposta imunológica em relação as avós, uma vez que as monitorias sorológicas são realizadas de maneira mais frequente e em caso de falhas realiza-se o reforço vacinal (SHARMA, 1999).

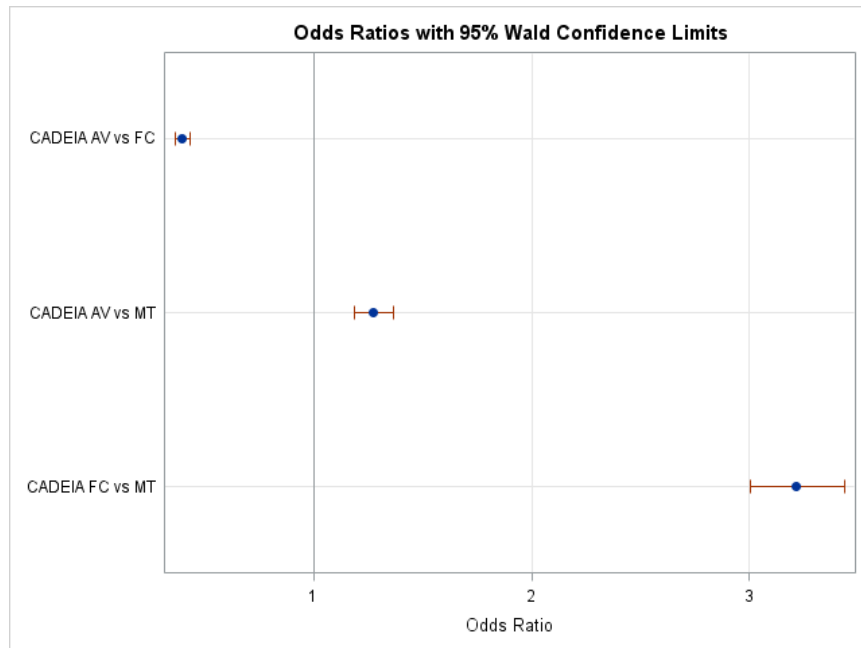


Figura 2: Razão de probabilidade de falhas vacinais entre as cadeias produtivas, onde AV= Avozeiras, FC= Frango de corte e MT= matrizes.

Na comparação entre as fases de vida das matrizes de frango, na qual a adequada imunização, apresenta a maior relevância, verificou-se que a fase final, apresenta 1,67 vezes mais chance de apresentar aves não protegidas, quando em comparação com a fase de pré-postura. Já a fase de meia-vida, apresenta 2,08 vezes mais chance de apresentar amostras no grupo zero do que a fase de pré-postura; e a fase de pico de produção de ovos, 1,83 vezes mais chance de apresentar amostras no grupo zero em relação a fase de pré-postura (figura 3).

Deste modo, verificou-se que a fase de pré-postura é a que possui menor probabilidade de apresentar falhas de cobertura vacinal, visto que compreende a idade de imunização das aves e soroconversão. A fase de pré-postura não apresenta diferença estatística, somente em comparação com a fase de início de postura, possivelmente em decorrência da estabilidade da imunização (SHARMA, 1999), visto que são as 2 fases iniciais da produção de ovos (Figura 3).

É possível observar também, que as fases de meio e pico de produção, apresentam 1,90 e 1,66 vezes mais chances de possuir aves sem imunidade para EA, em relação a fase de início (Figura 3). É possível que fatores imunossupressores estejam envolvidos, como condições de estresse, que envolve a fase de postura, excesso de calor ou frio, mudança de

alimentação, deficiência de nutrientes, infecção por outros agentes virais e micotoxinas (CORRIER & DELOACH, 1990; DOHMS & METZ, 1991; KAWASOE, 2009; GAMA & CANAL, 2009).

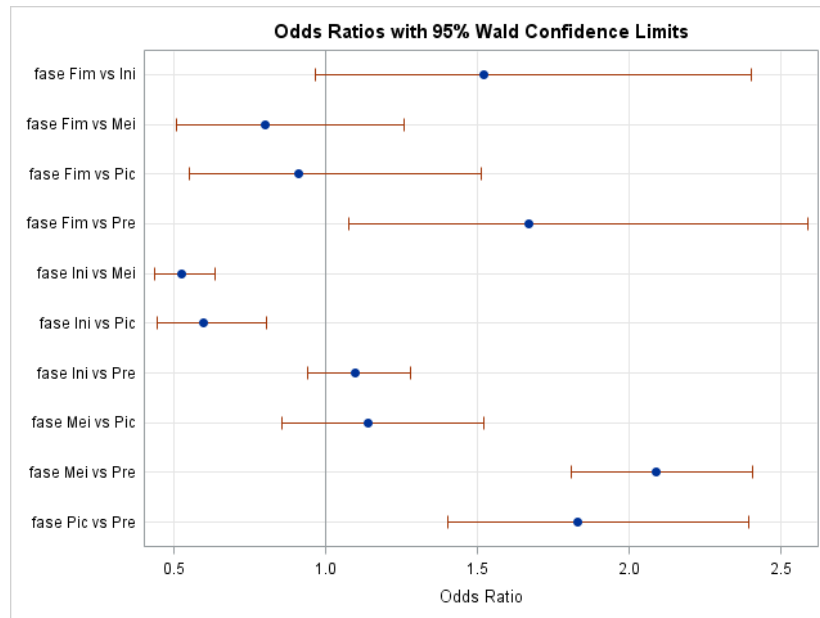


Figura 3: Razão de probabilidade entre as fases de produção das matrizes de frango. Sendo, fase de pré-postura (Pre), início de postura (Ini), pico de postura (Pic), meia vida de produção (Mei) e final de postura (Fim).

Realizou-se a avaliação de falhas vacinais ao longo dos anos (Figura 4), onde, identificou-se que o ano de 2015 apresentou 2,99 vezes mais chance de falhas vacinais que o ano de 2019; bem como o ano de 2016, 2,13 vezes mais chance que o ano de 2019; o ano de 2017, 1,29 vezes mais chance que o ano de 2019 e o ano 2018, 1,37 vezes mais chance que o ano de 2019. Assim, é possível afirmar, que houve uma melhora na imunização das aves ao longo dos anos, e que as medidas adotadas pela empresa, para reduzir as falhas vacinais, como a vacinação de 100% das aves do lote e o reforço vacinal, caso uma única ave apresente resultado no grupo zero, estão apresentando progresso contínuo.

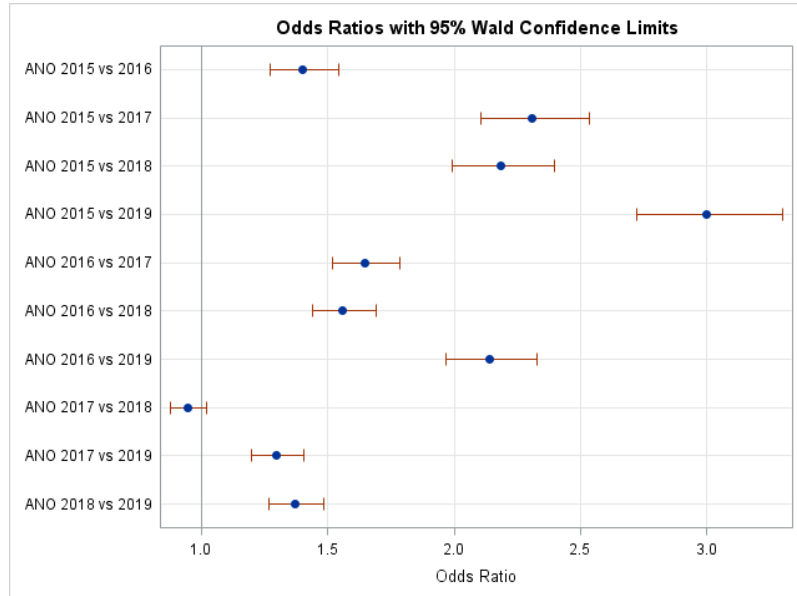


Figura 4: Razão de probabilidade de falhas vacinais ao longo dos anos 2015 à 2019.

Calnek (2008), Chaulghoumi et al. (2009) e Suarez (2013), destacam que os anticorpos maternos, são extremamente importantes para a defesa imunológica do pintainho em relação aos patógenos, a qual é transferida através da gema para a corrente sanguínea do embrião. Do mesmo modo, Bernardino & Leffer (2009), ressaltam que a escolha de um programa de vacinação adequado para as matrizes é o ponto mais importante para garantir a imunidade passiva adquirida pelos frangos de corte e assim garantir a proteção precoce contra os desafios de campo, deste modo quanto maior a eficácia da vacinação das matrizes, maiores serão os títulos de anticorpos recebidos pelos pintainhos e menores serão os riscos a ocorrência dessas enfermidades no sistema produtivo.

A encefalomielite aviária, foi uma doença de elevada importância econômica na década de 60. Atualmente o uso de vacinas comerciais tem colaborado efetivamente no controle dessa enfermidade e não é comum a detecção da doença clínica em frangos de corte. No entanto, apesar do uso da vacinação em larga escala, ainda é possível encontrar problemas associados a queda de postura em plantéis avícolas, decorrentes das falhas vacinais (MARTINS & SILVA, 2009).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A vacinação é uma das formas mais eficazes de prevenir à ocorrência das doenças, mas, para que ela seja eficaz, muitos fatores estão envolvidos e precisam ser controlados. Além de utilizar vacinas de boa qualidade, cuidados com a forma de armazenamento, dosagem e aplicação precisam ser seguidos à risca. Nesse trabalho, foi possível evidenciar que outros fatores como, a forma de manejo aplicada em cada localidade, a idade das aves na administração das vacinas, a cadeia produtiva e o acompanhamento sorológico na idade adequada, podem influenciar nos resultados. Ainda que, com a evolução da produtividade, a imunidade tende a diminuir e as aves ficarem mais suscetíveis à infecção.

Identificou-se que os resultados têm melhorando ao longo dos anos, mas, que ainda existem oportunidades de aprimoramento, principalmente quando se avalia que algumas cidades possuem resultados melhores que outras.

5 REFERÊNCIAS

AHMED, A. A. S.; ABOU, E. I.M.; AYOUB, N. N. K.; EL-TOUKHI, B. I. M. Studies on the Serological Detection of Antibodies to Avian Encephalomyelitis Virus. **Avian Pathology**. 11, 253–262, 1982.

AYDIN, S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. **Peptides**. 72, 4-15, 2015.

BAKHSHEH M, GROPELLI E, WILLCOCKS MM, ROYALL E, BELSHAM GJ, ROBERTS LO. The picornavirus avian encephalomyelitis virus possesses a hepatitis C virus-like internal ribosome entry site element. **Journal of Virology**. 82, 1993-2003, 2008.

BACK A. Encefalomielite aviária. *In*: BACK A. **Manual de doenças de aves**. Cafelândia: Editora Integração. p. 70-72, 2010.

BERNARDINO, A.; LEFFER, E. Doença infecciosa da bolsa de Fabrício. *In*: JÚNIOR, A. B.; SILVA, E. N.; FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. Campinas: Editora FACTA. p. 651-671, 2009.

BUENO R. C.; BAQUER S. R.; NAKANO, M. Ocorrência da encefalomielite aviária em São Paulo. Isolamento e identificação do vírus responsável. **Revista Brasileira de Biologia**. 24, 31-34, 1964.

CALNEK, B. W.; JEHNICH, H. Studies on avian encephalomyelitis. II Immune responses to vaccination procedures. **Avian Disease**. 3, 225-239, 1959.

CALNEK, B. W.; TAYLOR, P. J.; SEVOIAN, M. Studies on Avian Encephalomyelitis. IV Epizootiology. **Avian Diseases**. 4, p. 325-347, 1960.

CALNEK, B. W. Control of Avian Encephalomyelitis: A Historical Account. **Avian Diseases**. 42, 632–647, 1998.

CALNEK, B. W. Avian encephalomyelitis. *In*: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDOUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. R. **Diseases of poultry**. Ames: Blackwell. p. 430-441, 2008.

CHAULGHOUMI, R.; BECKERS, Y.; PORTETELLE, D.; THÉWIS, D. P. A. Hen egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**. 13, 295-308, 2009.

CORRIER, D. E.; DELOACH, J. R. Evaluation of Cell-Mediated, Cutaneous Basophil Hypersensitivity in Young Chickens by an Interdigital Skin Test. **Poultry Science**. 69, 403-408, 1990.

DE LA TORRE, D.; NUÑEZ, L. F.; PARRA, S. H. S.; ASTOLFI-FERREIRA, C. S.; FERREIRA, A. J. P. Detection by Rt-pcr and Molecular Characterization of Tremovirus A Obtained from Clinical Cases of Avian Encephalomyelitis (AE) Outbreaks in Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. 20, 527-536, 2018.

DOHMS, J. E.; METZ, A. Stress – mechanisms of immunosuppression. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 30, 89-109, 1991.

GAMA, N. M. S. Q.; CANAL, C. W. Laringotraqueíte Infecciosa das Galinhas. In: JÚNIOR A. B.; SILVA E. N.; FÁBIO J. D.; SESTI L.; ZUANASE M .A. F. **Doença das aves**. Campinas: Editora Facta. p.763-774, 2009.

GOTO, Y.; YAEGASHI, G.; KUMAGAI, Y.; OGASAWARA, F.; GOTO, M.; MASE, M. Detection of avian encephalomyelitis vírus in chickens in Japan using RT-PCR. **The Journal of Veterinary Medical Science**. 81, 103-106, 2019.

HAUCK, R.; SANTÍES-CUÉ, G. C.; WANG, Y.; KERN, C.; SHIVAPRASAD, H. L.; ZHOU, H.; GALLARDO, R. A. Evolution of avian encephalomyelitis virus during embryo-adaptation. **Veterinary Microbiology**. 204, 1-7, 2017.

IDE, P. R. The sensitivity of some avian viruses to formaldehyde fumigation. **Canadian journal of Comparative Medicine**. 43, 211–216, 1979.

IDEXX Laboratories. ELISA Technical Guide. One IDEXX drive Westbrook, Maine 04092 EUA, 2019a.

IDEXX Laboratories. Kit para detecção de Anticorpos contra vírus da Encefalomielite Aviária. São Paulo – SP. Referência, 06-01114-15, 2019b.

FAN, L.; LI, Z.; HUANG, J.; YANG, Z.; XIAO, S.; WANG, X.; DANG, R.; ZHANG, S. Dynamic distribution and tissue tropism of avian encephalomyelitis virus isolate XY/Q-1410 in experimentally infected Korean quail. **Archives of Virology**. 162, 11, 3447–3458, 2017.

FREITAS, E.; BACK, A. Is this an Emerging Disease ?. **Brazilian Journal of Poultry Science**. 17, 399–404, 2015.

JONES, E. E. An encephalomyelitis in the chicken. **Science**. 76, 331 – 332, 1932.

JONES, E. E. Epidemic tremor, an encephalomyelitis affecting young chickens. **The Journal of Experimental Medicine**. 59, 781 – 798, 1934.

KAWASOE, U. Coccidiose. In: JÚNIOR A.B.; SILVA E.N.; FÁBIO J. D.; SESTI L.; ZUANASE M.A.F. **Doença das aves**. Campinas: Editora Facta. p.763 – 774, 2009.

MARTINS P. C.; SILVA P. L. Encefalomielite aviária. In: BERCHIERI A.; SILVA E. N.; FÁBIO J. D.; SESTI L.; ZUANASE M. A. F. **Doença das aves**. Campinas: Editora Facta. P.763-774, 2009.

MARVIL, P.; KNOWLES, N. J.; MOCKETT, A. P. A.; BRITTON, P.; BROWN, D. K.; CAVANAGH, D. Avian encephalomyelitis virus is a picornavirus and is most closely related to hepatitis A vírus. **Journal of General Virology**. 80, 653-662, 1999.

MATEUS, M. C.; SANTOS, J. M. G. DOS. Imunização em frangos de corte. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**. 4, 227-246, 2011.

MUTINDA, W. U.; NIAGA, P. N.; MBUTHIA, P. G.; BEBORA, L. C.; MUCHEMI, G. Risk factors associated with infectious bursal disease vaccination failures in broiler farms in Kenya. **Tropical Animal Health and Production**. 46, p. 603-608, 2014.

PECKHAM, M. C. Case report – Lens opacities in fowls possibly associated with epidemic tremors. **Avian Diseases**. 1, 247-255, 1957.

ROCHA, T.M.; ANDRADE, M.A.; SANTANA, E. S.; FAYAD, A.R.; MATIAS, T.D. Aspectos clínicos, patológicos e epidemiológicos de doenças imunossupressoras em aves. **Enciclopédia Biosfera**. 10, 355-379, 2014.

ROCHA, P. M. C.; BARROS, M. E. G.; ROCHA, B. P.; SOUZA, F. A. L.; MENDONÇA, F. S.; EVÊNCIO-NETO, J. Severe Outbreak of Avian Encephalomyelitis in Laying Hens in Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. 21, 1-4, 2019.

ROY, P.; HEMALATHA, S.; VAIRAMUTHU S.; PURUSHOTHAMAN, V.; CHANDRAMOHAN, A.; KARUNAMURTHY, G.; KOTEESWARAN, A.; MURALIMANO HAR, B. An outbreak of avian encephalomyelitis in Tamil Nadu State of India. **West Indian Veterinary Journal**. 9, 8-10, 2009.

SENTIES-CUE, C. G.; GALLARDO, R. A.; REIMERS, N.; BICKFORD, A. A.; CHARLTON, B. R.; SHIVAPRASAD, H. L. Avian encephalomyelitis in layer pullets associated with vaccination. **Avian Diseases**. 60, 511-515, 2016.

SILVA, R. A.; SOUTO, G. G.; PEREIRA, E. F. C. Isolamento do vírus da encefalomielite aviária (tremor epidêmico) nos estados da Guanabara e Espírito Santo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 7,11-13, 1972.

SHARMA, J. M. Introduction to Poultry Vaccines and Immunity. **Advances in Veterinary Medicine**. 41, 481-494, 1999.

SMART, I. J.; GRIX, D. C. Measurement of antibodies to infectious avian encephalomyelitis virus by elisa. **Avian Pathology**. 14, 341-352, 1985.

SMART, I. J.; GRIX, D. C.; BARR, D. A. The application of the ELISA to the diagnosis and control of avian encephalomyelitis. **Australian veterinary journal**. 63, 297-299, 1986.

SUAREZ, D. L. Avian Encephalomyelitis. *In*: SWAYNE, D.E.; GLISSON, J.R.; MCDOUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SUAREZ, D. L.; NAIR, V. **Diseases of poultry**. Ames: Wiley-Blacwell. p.486-493, 2013.

TANNOCK, G. A.; SHAFREN, D. R. Avian encephalomyelitis: a review. **Avian Pathology**. 23, 603–620, 1994.

XIE, Z.; KHAN, M. I.; GIRSHICK, T.; XIE, Z. Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction to Detect Avian Encephalomyelitis Virus. **BioOne**. 49, 227-230, 2005.

YU, X.; ZHAO, J.; QIN, X.; ZHANG, G. Serological evidence of avian encephalomyelitis virus infection associated with vertical transmission in chicks. **Biologicals**. 43, 512-514, 2015.

ZELL, R.; DELWART, E.; GORBALENYA, A. E.; HOVI, T.; KING, A. M. Q.; KNOWLES, N. J.; LINDBERG, A. M.; PALLANSCH, M. A.; PALMENBERG, A.C.; REUTER, G.; SIMMONDS, P.; SKERN, T.; STANWAY, G.; YAMASHITA, T. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. **Journal of General Virology**. 98, 2421–2422, 2017.