

## Revisión de Literatura

# Evolución filogenética e impacto en la respuesta inmunológica del virus de Bronquitis Infecciosa Aviar

## Phylogenetic evolution and impact on the immuno response of the Avian Infectious Bronchitis virus

Rosa Sanmiguel Plazas<sup>1</sup>, Diana Rodríguez F.<sup>1</sup>,  
Estuardo Palacios<sup>2</sup>, Analorena Cifuentes-Rincon<sup>1\*</sup>

### RESUMEN

La Bronquitis Infecciosa Aviar (BIA) es una enfermedad viral que genera grandes pérdidas económicas en la industria avícola. Por los componentes estructurales y características inmunogénicas particulares, el virus de la BIA, el coronavirus del pollo (*Gallus gallus*), ha generado un gran desafío para su control, dada la aparición de diferentes genotipos de distribución mundial con manifestaciones clínicas cambiantes. Esto ha generado un interés del estudio y análisis de la dinámica de la evolución filogenética del virus, así como el impacto en la actividad inmunológica exigiendo el desarrollo de cepa vacunales nuevas basadas en la alta variabilidad de la porción 1 gen S1. En la presente revisión se recopiló información actualizada sobre la evolución filogenética del VBIA y se analiza el impacto en la respuesta inmunogénica en sistemas de producción avícola.

**Palabras clave:** coronavirus, patología aviar, inmunización, mutaciones

<sup>1</sup> Grupo de Investigación IMPRONTA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, Ibagué, Tolima, Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

\* E-mail: [lorenacifuentesmvz@gmail.com](mailto:lorenacifuentesmvz@gmail.com)

Recibido: 7 de marzo de 2023

Aceptado para publicación: 25 de noviembre de 2023

Publicado: 18 de diciembre de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

## ABSTRACT

Avian Infectious Bronchitis (IAB) is a viral disease that generates great economic losses in the poultry industry. Due to its structural components and particular immunogenic characteristics, the IB virus, the chicken coronavirus (*Gallus gallus*), has generated a great challenge for its control, given the emergence of different genotypes with global distribution with changing clinical manifestations. This has generated interest in the study and analysis of the dynamics of the phylogenetic evolution of the virus, as well as the impact on immunological activity, requiring the development of new vaccine strains based on the high variability of the S1 gene portion 1. In the present review, updated information on the phylogenetic evolution of IAV was compiled and the impact on the immunogenic response in poultry production systems is analysed.

**Key words:** coronavirus, avian pathology, immunization, mutations

## INTRODUCCIÓN

Las aves de las granjas avícolas de producción intensiva tienen un alto riesgo de contraer enfermedades infecciosas, causando pérdidas económicas tanto en el pollo de engorde como en la gallina ponedora, amenazando la seguridad alimentaria. La producción mundial de carne de pollo fue estimada en 100 millones de toneladas (USDA, 2021) y de huevo en 73 millones de toneladas en 2020 (FAO 2018)

Virus como el de la bronquitis infecciosa aviar (VBIA) y el virus de la gripe aviar provocan riesgos significativos en la salud pública y la economía mundial (Barjesteh *et al.*, 2020). La BIA es causada por un virus del género *Gammacoronavirus*, familia Coronaviridae, y es una de las enfermedades que se encuentran en el código sanitario de los animales terrestres de la OIE (2021). La patología se caracteriza por complicaciones respiratorias, renales, reproductivas y digestivas, lo que ocasiona una alta morbilidad y dependiendo de su variante genética puede variar la mortalidad (Seger *et al.*, 2016; Karimi *et al.*, 2019)

El VBIA es capaz de mutar y recombinarse rápidamente, lo cual genera nuevos serotipos que se tornan difíciles de diagnosticar y controlar (Bande *et al.*, 2017) Este virus tiene afinidad por las células epiteliales del tracto respiratorio superior de las aves en donde se replica provocando cambios inmunológicos, moduladores y morfológicos (Okino *et al.*, 2017). La infección ocasiona síntomas nefrogénicos y respiratorios en pollos de engorde y una disminución de la fertilidad y la incubabilidad en las gallinas ponedoras (Jakhesara *et al.*, 2018), además de causar cambios en la formación de la cáscara de huevo provocadas por células citotóxicas y citocinas proinflamatorias que alteran la expresión de colágeno tipo I en el istmo y en el útero (Nii *et al.*, 2014).

La enfermedad fue descrita por primera vez en 1931 en Estados Unidos de Norteamérica (Schalk y Haawn, 1931), siendo demostrado años más que el agente causal era un virus (Beach y Schalm, 1936), que actualmente se le conoce como VBIA. Desde esas fechas se han llevado a cabo múltiples estudios que han ido descubriendo diversas y nuevas variantes y serotipos del VBIA (Jackwood, 2012), siendo el serotipo

Massachusetts (Mass) el más utilizado como cepa vacunal (Saif *et al.*, 2009). En la presente revisión se recopiló información actualizada sobre la evolución filogenética del VBIA y se analiza el impacto en la respuesta inmuno-génica en sistemas de producción avícola.

### Componentes del Virus

El VBIA es un ARN capsulado, conformado por 500 a 600 aminoácidos distribuidos en cuatro proteínas estructurales, entre las cuales se encuentra en grandes cantidades la glicoproteína integral de la membrana (M), y en menores cantidades una proteína no glicosilada asociada a la membranas (E), la proteína de la nucleocápside (N) asociada con el RNA del genoma viral desempeñando un papel esencial en la replicación y traducción del ARN viral, y la proteína de la espícula (S) que se encuentra aferrada a la membrana por la porción carboxiterminal de la subunidad 2 (S2) que interactúa con la región transmembrana de la proteína M (Cavanagh, 2007).

Se ha evidenciado que la proteína N puede inducir altos títulos de anticuerpos de reacción cruzada e inmunidad celular, lo que protege a los pollos de la infección aguda (Han *et al.*, 2013). La proteína S es un dímero o trímero, cuya función es incorporar el virus a unas moléculas receptoras en la célula del huésped, activando la unión de la membrana del virión con las membranas del huésped y liberando el genoma viral en la célula. Esta proteína tiene dos subdivisiones: la S1 que es amino-terminal y la S2 que es carboxi-terminal. La subunidad S1, ubicada en el exterior del virus, es responsable de la unión entre la envoltura del virus y la membrana celular del huésped, de ahí su importancia en la respuesta inmunológica (Cavanagh, 2007; Jackwood, 2012).

La comparación de la secuencia de otros coronavirus y la secuencia del epítipo 15E2 mostraron que el epítipo está bien conservado entre los coronavirus de pollo y pavo, concluyendo que el epítipo E152 puede ser

útil como herramienta en la clínica para el estudio de la estructura y función de la proteína M del virus de BIA (Xing *et al.*, 2009). Adicionalmente, los microARN (miARN) son importantes reguladores intracelulares y juegan un papel fundamental en las infecciones virales. Un estudio demuestra que los miARN regulan la replicación del VBIA mediante la enzima desubiquitinadora (DUB) (Li *et al.*, 2020).

### Distribución de la Bronquitis Infecciosa Aviar

La BIA es de distribución global (Cavanagh, 2007). En la medida que se identifican las variantes, se ha podido describir diferencias en las manifestaciones clínicas, morbilidad y mortalidad. Estas variantes con el paso del tiempo han dado lugar a serotipos clásicos, tales como las cepas Mass, 4/91, M28 y la M41 (Chen *et al.*, 2015). Incluso en 1960 se aislaron nuevas cepas de tipo Mass entre las que se encontraban Connecticut y SE17 (Jia *et al.*, 2002). En 1970, en Europa se identificaron nuevas variantes del virus, serotipos designados como D274, D1466, D3896 y D3128, aislados de grupos aviares previamente vacunados con cepas de Mass (Dawson y Gough, 1971). En 1999, la cepa 793/B se identificó como el serotipo predominante en el Reino Unido (Adzhar *et al.*, 1997). También se reportaron otros serotipos europeos del genotipo Mass en Francia, Bélgica, Italia, Polonia y España (Bande *et al.*, 2017). En 1990, Suecia reveló en el análisis filogenético que las cepas de tipo Massachusetts fueron reemplazadas por cepas similares a D388/QX; sin embargo, no se identificó el vínculo evolutivo entre ellas (Abro *et al.*, 2012).

Entre 2002 y 2006 se identificaron variantes del VBIA en Europa Occidental, siendo predominante el serotipo 793B, seguido de Mass, H120, M41, IBM, Italia02, y una variante cercana relacionada con el aislado chino QX, identificados previamente en Reino Unido y España (Worthington *et al.*, 2008).

Los reportes de cepas del VBIA en el continente asiático datan de principios de la década de 1960. Así, en Tailandia se identificó la cepa THA80151 con similitud a la cepa QX-like, al comparar el desafío entre pollos vacunados y no vacunados con la cepa Mass y Connecticut (Sasipreeyajan *et al.*, 2012), en tanto que con la variante 4/91 se demostró una protección incompleta con lesiones traqueales y renales significativas (Pohuang *et al.*, 2016).

En el norte de India se aislaron cepas provenientes de pollos de engorde, concluyendo que podrían tener una cepa reversible desarrollada a partir de las cepas de vacunas vivas atenuadas de uso común en la región (Jakhesara *et al.*, 2018). En China, en la década del 80, se informó de un brote pudiéndose clasificar cepas de tipo A2 y QX-IBV (Li *et al.*, 2012), en tanto que en Yunnan en 2012 se identificó la cepa YN que ocasiona lesiones renales y traqueales graves en las aves (Feng *et al.*, 2012) y en la provincia china de Jiangsu en 2013 se identificó una nueva cepa nefro-patógena altamente virulenta llamada CK/CH/XDC-2/2013 en un lote vacunado y que presentaba signos clínicos de BIA (Leghari *et al.*, 2016).

En Latinoamérica se comenzaron a aislar cepas de tipo Mass en Brasil (Hipólito, 1957), Chile (Hidalgo *et al.*, 1976), Colombia (Alvarado *et al.*, 2005) y Argentina (Rimondi *et al.*, 2009). Los genotipos encontrados en 1964 fueron denominados Sur América I (SAI) (Marandino *et al.*, 2015) y posteriormente se reportó la cepa Asia/SAII con alta probabilidad de provenir de cepas de China, Taiwán, Uruguay y Argentina (Marandino *et al.*, 2015). En Colombia se reportó la circulación de genotipos nuevos donde hay existencia de riesgo de recombinación genética del virus (Cifuentes-Rincón *et al.*, 2016). Por otro lado, los datos epidemiológicos y científicos en el continente africano son escasos y poco actualizados (Kouakou *et al.*, 2015; Khataby *et al.*, 2016).

## Evolución Filogenética

La aparición de nuevas variantes del virus de BIA es atribuida a las mutaciones específicas y la recombinación, junto a la falta de material genético o inserciones que ocurren en el genoma (Liu *et al.*, 2014). Pese a que el serotipo Mass se convirtió en el modelo para el diseño de vacunas a nivel mundial contra la BIA, la facilidad para recombinar y mutar en cada réplica ha generado una dinámica en cambios filogenéticos significativos que terminan en serotipos diferentes a los vacunales (Figura 1) y, por consiguiente, un desafío constante para la respuesta inmunológica.

Mediante las comparaciones de secuencias de nucleótidos y aminoácidos se determinó que aislamientos recientes tienen un 98.97% de similitud genética con cepas del genotipo QX que genera manifestaciones clínicas renales de mayor impacto en la salud aviar (Abro *et al.*, 2012). La replicación del virus de estructura de ARN puede estar relacionada en parte con el hecho de que la unión del VBIA a las células huésped depende del ácido N-acetilneuramínico o ácido siálico presente en la superficie celular de las aves, el cual es una molécula que se localiza en las partes lubricantes como la saliva o en la capa de mucina que recubre las distintas mucosas en el organismo (Cavanagh, 2007). Existe evidencia de que el ácido siálico intercede en el proceso de unión de la glucoproteína S del virus y las células del huésped (Kreml *et al.*, 1997).

Una aparición de nuevas variantes de VBIA es una consecuencia respecto a patotipos, serotipos y protectotipos ya que su evolución en los procesos filogenéticos ha generado cambios en la patogenicidad (Liu *et al.*, 2014). El análisis genético y la secuencia de nucleótidos siguientes de las series de genes de las proteínas S1 y N han ofrecido un método rápido y preciso para clasificar y predecir el genotipo del virus de BIA, y un

## Evolución del virus de Bronquitis Infecciosa Aviar

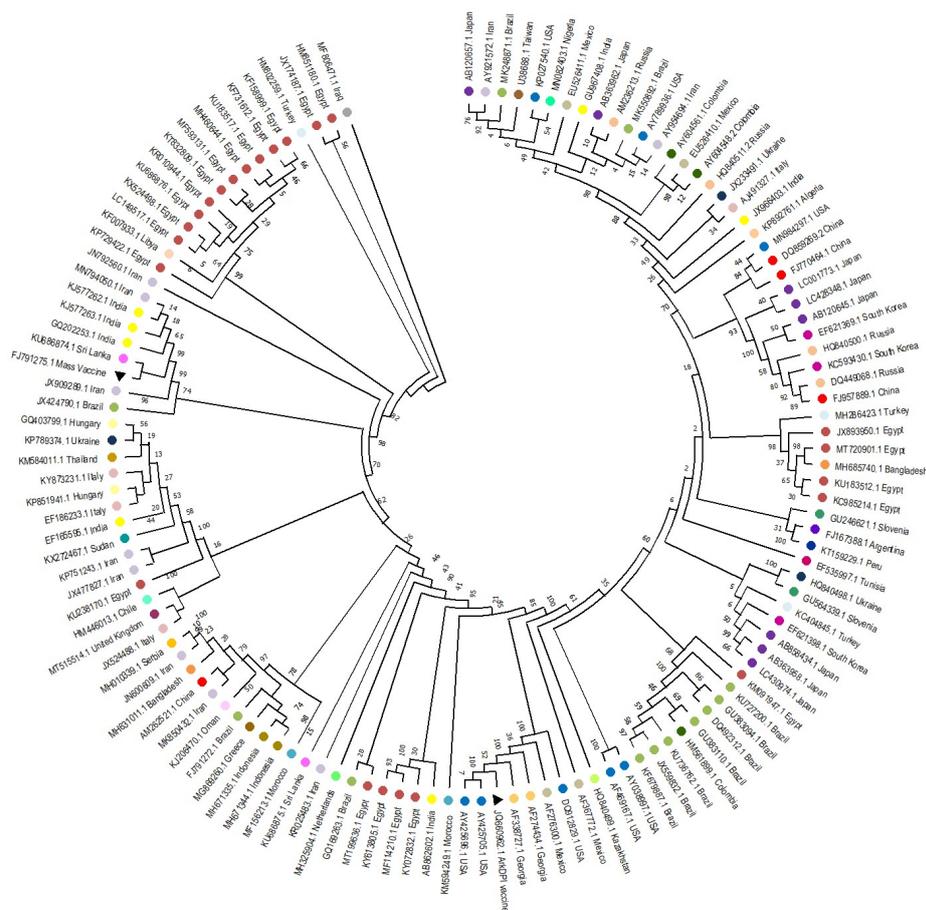


Figura 1. Árbol filogenético de secuencias de nucleótidos S1 (300-700 pb) del virus de Bronquitis Infecciosa Aviar (BIA) a partir de 129 secuencias de varios países obtenidas en el GenBank. La filogenia ilustra las relaciones evolutivas entre todos los genotipos y linajes de BIA aquí propuestos. Cada país está codificado por colores y se notifica su número de acceso al Genbank. Los serotipos vacunales están marcados con triángulos negros correspondientes a las cepas vacunales Mass y ArkDPI. Las relaciones entre los citotipos fueron planteadas usando el método de Máxima Parsimonia, conducido por el programa MEGA X (Kumar *et al.*, 2018) e infiriendo 500 réplicas de Bootstrap. El árbol más parsimonioso se obtuvo utilizando el algoritmo *Subtree-Pruning-Regrafting* (SPR). La figura es de creación propia y no asume una hipótesis evolutiva, siendo netamente ilustrativa para la gran variedad de serotipos existentes de BIA en todo el mundo

poderoso instrumento para monitorear la evolución filogenética y epidemiológica de sus variantes (Montassier, 2010).

La cepa 793/B del VBIA es un genotipo importante que circula actualmente en varios países (Zhang *et al.*, 2015). Otro serotipo que tiene una alta distribución afectando los teji-

dos del sistema respiratorio digestivo y renal es el IRFIBV32 (Boroomand *et al.*, 2012; Kalokhoran *et al.*, 2017).

En el 2017, se reportó el estudio de patogenicidad de la cepa iraní denominada variante IR-1, con epiteliotropismo marcado en el tracto respiratorio, pero también con con-

secuencias en el sistema digestivo y renal (Najafi *et al.*, 2016)-Paralelamente, en la misma región fueron aisladas las cepas circulantes de distribución mundial IS-1494-like, 793/B, QX and Massachusetts IBV (Modiri Hamadan *et al.*, 2017) con porcentajes de similitud entre 10 y 100% y con una mayor identidad en los clústeres de las cepas 4/91 y IB88 (Kalokhoran *et al.*, 2017). En Egipto fueron reportadas dos cepas de campo circulantes del virus de BIA con alta similitud con la cepa egipcia II (Naguib *et al.*, 2017).

Mahmood *et al.* (2011) infirieron que el péptido basado en múltiples epítomos de la secuencia de aminoácidos de las cepas aisladas en Israel (IS/720/99, IS/885) y Egipto (Egipto/Benisuef/01) pueden tener relación y pertenecer a un nuevo genotipo. También se ha evidenciado que la mayor virulencia en pollos libres de patógenos se debe a la acumulación y recombinación de mutaciones en el genoma CK/CH/LJL/111054 (Liu *et al.*, 2014).

En Brasil se describieron tres subcepas en un genotipo de BIA genéticamente distante de la cepa Mass. Inesperadamente dos cepas se tipificaron como 4/91, también conocidas como 793B y CR88, lo que demuestra la gran diversidad del virus de BIA en el país (Brandão, 2010).

### **Respuesta Inmunológica al Virus de BIA**

El mayor riesgo sanitario de los sistemas de producción avícola se ha identificado por el contacto directo y/o indirecto con aves silvestres (Wang *et al.*, 2013) y aves de traspatio, acompañado de medidas de bioseguridad deficientes (Jiang *et al.*, 2014). El virus de la BIA es clasificado como uno de los agentes infecciosos secundarios basados en estudios epidemiológicos que indican que la inmunodeficiencia viral desempeña un papel significativo en el desarrollo de la infección (Toro *et al.*, 2006). Esta falla puede estar asociada con otros virus como el Virus de la bursa y el de Anemia infecciosa aviar por limitación en la respuesta inmune innata de la

glándula harderiana y las tonsilas cecales (van Ginkel *et al.*, 2008). Adicionalmente, la inmunodeficiencia generada por la infección por VBIA a menudo ocurre debido a la aparición de nuevos serotipos o cepas de campo antigénicamente diferentes de las cepas vacunales (Xia *et al.*, 2018). Ante esto, la producción de vacunas con cepas muertas o vivas atenuadas se enfoca en la inclusión de nuevas variantes de BIA, pero este proceso puede tardar meses o años, a pesar de la urgencia de la industria avícola para controlar las cepas de campo (Jackwood, 2012)

Como consecuencia al uso masivo de cepas vacunales, la evolución a una nueva variedad de cepas virales se origina a través de una mutación espontánea aleatoria y la recombinación genética que podría conducir a una desviación en los clústeres genéticos (Rafique *et al.*, 2018). Por esa razón es necesario invertir en vigilancia epidemiológica para evaluar el impacto de las cepas de vacuna utilizadas en cada región, así como explorar el desarrollo de vacunas con enfoques novedosos y eficaces (Fraga *et al.*, 2018). En este sentido, el análisis de la red filogenética cumple una función fundamental para la identificación del origen, perfil genético del virus de campo y producción de nuevas cepas vacunales (Jackwood y Lee, 2017). No obstante, la vacunación mixta de la cepa H120 y 793/B comparada con la vacuna única H120 no presentó diferencia en la reducción de la carga viral y daños patológicos (Karimi *et al.*, 2019), reafirmando la hipótesis de la falta de protección cruzada entre las cepas vacunales y las variantes de nuevos genotipos (Cifuentes-Rincón *et al.*, 2016).

En la avicultura comercial es común encontrar infecciones concomitantes con otros virus como el de la enfermedad de Newcastle e influenza aviar (Hanaa *et al.*, 2017) así como con bacterias (Valastro *et al.*, 2016). La vacunación con cepas vivas del virus de BIA 4/91 en Egipto evidenció de manera cuestionable el incremento de la patogenicidad del *Ornithobacterium rhinotracheale* (Ellakany *et al.*, 2019).

Estudios sobre la patogenicidad del VBIA cepa emergente QX-like, demostró la alta morbilidad acompañada de ciliostasis traqueal severa y baja letalidad, con genotipificación de cinco variantes denominadas GDJ, GDS, LN1, LN2, y TJ (Yan *et al.*, 2019), mientras que la patogenicidad de la cepa LX4-type se enfocó en el tropismo renal ocasionando nefropatías con las variantes denominadas CK/CH/LHLJ/04V, atribuido a la región 3'beta-7kb del virus (Liu *et al.*, 2009). Esto evidencia la evolución constante del virus y la inminente necesidad de estudiar la epidemiología y patogenicidad, de manera de ayudar a controlar su diseminación mediante la vacunación con cepas locales atenuadas (Quinteros *et al.*, 2016) e incluso buscar el desarrollo de estrategias antivirales efectivas (Zhou *et al.*, 2017).

En atención a metodologías de inducción de respuesta inmunológica vacunal, se han estudiado alternativas sobre el uso de péptidos inmunogénicos vacunales contra diferentes cepas de VBIA, expresados en bacterias tales como *Lactococcus lactis* NZ3900 y *Escherichia coli*, que actúan como vehículos vacunales que incrementan la respuesta celular y humoral en vacunas de uso oral contra la infección experimental con la cepa SAIBk del virus de BIA, ofreciendo protección ante desafíos virales a dosis letal (Cao *et al.*, 2013). Otra opción validada es la producción de cepas vacunales con recombinación dirigida del ARN basadas en VBIA virulento, brindando oportunidades de vacunas atenuadas vivas y diseñadas racionalmente (van Beurden *et al.*, 2018). De una manera semejante, se ha evidenciado el incremento de la respuesta inmune celular y humoral mejorando la secreción de IgA en lágrimas y secreciones intestinales cuando se vacuna con cepas vivas y atenuadas en coadministración con el resiquimod (R848) (Matoo *et al.*, 2018).

Una estrategia que ha ganado atención es inducir respuestas antivirales innatas efectivas, ya que proporcionan la primera línea de defensa contra virus invasores en el or-

ganismo (Barjesteh *et al.*, 2020). Dentro de las estrategias antivirales han sido estudiados los polisacáridos de astrágalo (PSA), incluyendo el caso de VBIA, pudiendo representar un agente terapéutico potencial para inhibir la replicación viral o incluso como coadyuvante de la vacunación, incrementando la respuesta inmune tanto innata como específica (Zhang *et al.*, 2018). De igual manera, a la hipericina (HY) se le han identificado efectos antivirales contra la infección por VBIA promoviendo la inhibición de la apoptosis de célula renales desafiadas, reduce la expresión de RNAm de citocinas tipo Fas, FasL, JNK, Bax, Caspase 3, and Caspase 8, y aumenta de manera significativa la expresión de Bcl-2 mRNA y la generación de especies reactivas de oxígeno en células de riñón de embrión de pollo (Chen *et al.*, 2019).

A nivel experimental se ha identificado interacción negativa en la coinfección entre VBIA y el virus de influenza aviar de baja patogenicidad (LPAI) H9N2, demostrándose que dependiendo de las condiciones se disminuye el crecimiento del primer virus inoculado (Aouini *et al.*, 2018). Estos resultados reafirman la hipótesis de la influencia que existe entre los diferentes virus que se incluyen en los programas de vacunación para afectar de forma negativa la respuesta inmune (Lupini *et al.*, 2020).

Las medidas de prevención contra el VBIA en todo el mundo dependen principalmente de la aplicación de cepas de vacunas vivas modificadas. No obstante, los estudios demuestran que la recombinación entre cepas de campo y cepas vacunales dan lugar a nuevas cepas patógenas (Mo *et al.*, 2020; Ren *et al.*, 2020). De ahí la importancia de los estudios epidemiológicos moleculares, el monitoreo y el control de los brotes, articulado con el desarrollo de nuevas vacunas basadas en los serotipos que circulan en el campo, para evitar la propagación de la enfermedad y sus consecuencias económicas. Estas últimas van a depender de diversos factores como edad de las aves al momento de la infección, la cepa del virus, nutrición, bioseguridad, así como del ambiente externo e interno de las aves (Colvero *et al.*, 2015).

## LITERATURA CITADA

1. **Abro SH, Renström LHM, Ullman K, Isaksson M, Zohari S, Jansson DS, Belák S, Baule C. 2012.** Emergence of novel strains of avian infectious bronchitis virus in Sweden. *Vet Microbiol* 155: 237-246. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.09.022
2. **Adzhar A, Gough RE, Haydon D, Shaw K, Britton P, Cavanagh D. 1997.** Molecular analysis of the 793/B serotype of infectious bronchitis virus in Great Britain. *Avian Pathol* 26: 625-640. doi: 10.1080/03079459708419239
3. **Alvarado IR, Villegas P, Mossos N, Jackwood MW. 2005.** Molecular characterization of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Colombia during 2003. *Avian Dis* 49: 494-499. doi: 10.1637/7202-050304R.1
4. **Aouini R, Laamiri N, Ghram A. 2018.** Viral interference between low pathogenic avian influenza H9N2 and avian infectious bronchitis viruses *in vitro* and *in ovo*. *J Virol Methods* 259: 92-99. doi: 10.1016/j.jviromet.2018.06.011
5. **Bande F, Arshad SS, Omar AR, Hair-Bejo M, Mahmuda A, Nair V. 2017.** Global distributions and strain diversity of avian infectious bronchitis virus: a review. *Anim Health Res Rev* 18: 70-83. doi: 10.1017/S1466252317000044.
6. **Barjesteh N, O'Dowd K, Vahedi SM. 2020.** Antiviral responses against chicken respiratory infections: focus on avian influenza virus and infectious bronchitis virus. *Cytokine* 127: 154961. doi: 10.1016/j.cyto.2019.154961
7. **Beach JR, Schalm OW. 1936.** A filterable virus, distinct from that of laryngotracheitis, the cause of a respiratory disease of chicks. *Poultry Sci* 15: 199-206. doi: 10.3382/PS.0150199
8. **van Beurden SJ, Berends AJ, Krämer-Kühl A, Spekrijse D, Chenard G, Philipp H-C, Mundt E, et al. 2018.** Recombinant live attenuated avian coronavirus vaccines with deletions in the accessory genes 3ab and/or 5ab protect against infectious bronchitis in chickens. *Vaccine* 36: 1085-1092. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.01.017
9. **Boroomand Z, Asasi K, Mohammadi A. 2012.** Pathogenesis and tissue distribution of avian infectious bronchitis virus isolate IRFIBV32 (793/B Serotype) in experimentally infected broiler chickens. *Sci World J* 2012: 402537. doi: 10.1100/2012/402537
10. **Brandão P. 2010.** Avian infectious bronchitis virus in Brazil: a highly complex virus meets a highly susceptible host population. *Rev Bras Cienc Avic* 12: 121-124. doi: 10.1590/S1516-635X2010000200008
11. **Cao H-P, Wang H-N, Yang X, Zhang A-Y, Li X, Ding M-D, Liu S-T, Zhang Z-K, Yang F. 2013.** *Lactococcus lactis* anchoring avian infectious bronchitis virus multi-epitope peptide EpiC induced specific immune responses in chickens. *Biosci Biotechnol Biochem* 77: 1499-1504. doi: 10.1271/bbb.130157
12. **Cavanagh D. 2007.** Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Vet Res* 38: 281-297. doi: 10.1051/vetres:2006055
13. **Chen H, Feng R, Muhammad I, Abbas G, Zhang Y, Ren Y, Huang X, et al. 2019.** Protective effects of hypericin against infectious bronchitis virus induced apoptosis and reactive oxygen species in chicken embryo kidney cells. *Poultry Sci* 98: 6367-6377. doi: 10.3382/ps/pez465
14. **Chen L, Zhang T, Han Z, Liang S, Xu Y, Xu Q, Chen Y, et al. 2015.** Molecular and antigenic characteristics of Massachusetts genotype infectious bronchitis coronavirus in China. *Vet Microbiol* 181: 241-251. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.10.003
15. **Cifuentes-Rincón A, Lopes PD, Sanmiguel RA. 2016.** Genotipificación de variantes del virus de bronquitis infecciosa aviar en el departamento del Tolima, Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 21: 5500-5510. doi: 10.21897/rmvz.824

16. **Colvero LP, Villarreal LYB, Torres CA, Brañdo PE. 2015.** Assessing the economic burden of avian infectious bronchitis on poultry farms in Brazil. *Rev Sci Tech OIE* 34: 993-999. doi: 10.20506/rst.34.3.2411
17. **Dawson PS, Gough RE. 1971.** Antigenic variation in strains of avian infectious bronchitis virus. *Arch Ges Virusforsch* 34: 32-9. doi: 10.1007/BF0-1250243
18. **Ellakany HF, Elbestawy AR, Abdel-Elhamid HS, Gado AR, Nassar AA, Abdel-Latif MA, Ghanima IIA, et al. 2019.** Effect of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection along with live infectious bronchitis vaccination in broiler chickens. *Poultry Sci* 98: 105-111. doi: 10.3382/ps/pey324
19. **[FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018.** The future of food and agriculture. Supplementary Material 2. FAO, Rome. [Internet]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/i6583e/i6583e.pdf>
20. **Feng J, Hu Y, Ma Z, Yu Q, Zhao J, Liu X, Zhang G. 2012.** Virulent avian infectious bronchitis virus, people's Republic of China. *Emerg Infect Dis* 18: 1994-2001. doi: 10.3201/eid1812.120552
21. **Fraga AP, Gräf T, Pereira CS, Ikuta N, Fonseca ASK, Lunge VR. 2018.** Phylodynamic analysis and molecular diversity of the avian infectious bronchitis virus of chickens in Brazil. *Infect Genet Evol* 61: 77-83. doi: 10.1016/j.meegid.-2018.03.014
22. **van Ginkel FW, van Santen VL, Gulley SL, Toro H. 2008.** Infectious bronchitis virus in the chicken harderian gland and lachrymal fluid: viral load, infectivity, immune cell responses, and effects of viral immunodeficiency. *Avian Dis* 52: 608-617. doi: 10.1637/8349-050908-Reg.1
23. **Han Z, Zhao F, Shao Y, Liu X, Kong X, Song Y, Liu S. 2013.** Fine level epitope mapping and conservation analysis of two novel linear B-cell epitopes of the avian infectious bronchitis coronavirus nucleocapsid protein. *Virus Res* 171: 54-64. doi: 10.1016/j.virusres.-2012.10.028
24. **Hanaa AE, Shaimaa MT, Mahmoud S, Alaa GA, Taha G, Hesham AS. 2017.** The co-infection of variant-II infectious bronchitis virus with other viral infection in broilers. *Anim Hlth Res J* 5: 126-133.
25. **Hidalgo H, Gallardo R, Rosende S. 1976.** Isolation of infectious bronchitis virus from broiler chickens in Chile. *Avian Dis* 20: 601-603. doi: 10.2307/1589395
26. **Hipólito O.** Isolation and identification of the virus of infectious bronchitis of chickens in Brazil. *Arq Esc Vet Univ Minas Gerais* 10: 131-151. doi: 10.1590/S1516-635X20100003000091957
27. **Jackwood MW. 2012.** Review of infectious bronchitis virus around the world. *Avian Dis* 56: 634-641. doi: 10.1637/10227-043012-Review.1
28. **Jackwood MW, Lee D-H. 2017.** Different evolutionary trajectories of vaccine-controlled and non-controlled avian infectious bronchitis viruses in commercial poultry. *Plos One* 12: e0176709. doi: 10.1371/journal.pone.-0176709
29. **Jakhesara SJ, Nath B, Pal JK, Joshi CG, Kumar S. 2018.** Emergence of a genotype I variant of avian infectious bronchitis virus from Northern part of India. *Acta Trop* 183: 57-60. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.04.004
30. **Jia W, Mondal SP, Naqi SA. 2002.** Genetic and antigenic diversity in avian infectious bronchitis virus isolates of the 1940s. *Avian Dis* 46: 437-441. doi: 10.1637/0005-2086(2002)046-[0437:GAADIA]2.0.CO;2
31. **Jiang Q, Zhou J, Jiang Z, Xu B. 2014.** Identifying risk factors of avian infectious diseases at household level in Poyang Lake region, China. *Prev Vet Med* 116: 151-160. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.-04.016
32. **Kalokhoran AY, Ghalyanchilangeroudi A, Hosseini H, Madadgar O, Karimi V, Hashemzadeh M, et al. 2017.** Co-circulation of three clusters of 793/B-like avian infectious bronchitis vi-

- rus genotypes in Iranian chicken flocks. *Arch Virol* 162: 3183-3189. doi: 10.1007/s00705-017-3473-3
33. **Karimi V, Mohammadi P, Ghalyanchilan-geroudi A, Ghafouri SA, Hashemzadeh M, Farahani RK, Maghsouldoo H, et al. 2019.** Including 793/B type avian infectious bronchitis vaccine in 1-day-old chicken increased the protection against QX genotype. *Trop Anim Health Pro* 51: 629. doi: 10.1007/S11250-018-1730-4
  34. **Khataby K, Fellahi S, Loutfi C, Mustapha EM. 2016.** Avian infectious bronchitis virus in Africa: a review. *Vet Quart* 36: 71-75. doi: 10.1080/01652176-2015.1126869
  35. **Kouakou AV, Kouakou V, Kouakou C, Godji P, Kouassi AL, Krou HA, Langeois Q, et al. 2015.** Prevalence of Newcastle disease virus and infectious bronchitis virus in avian influenza negative birds from live bird markets and backyard and commercial farms in Ivory-Coast. *Res Vet Sci* 102: 83-88. doi: 10.1016/j.rvsc.2015.07.015
  36. **Krempl C, Schultze B, Laude H, Herrler G. 1997.** Point mutations in the S protein connect the sialic acid binding activity with the enteropathogenicity of transmissible gastroenteritis coronavirus. *J Virol* 71: 3285-3287. doi: 10.1128/jvi-71.4.3285-3287.1997
  37. **Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018.** MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 35: 1547—1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
  38. **Leghari RA, Fan B, Wang H, Bai J, Zhang L, Abro SH, Jiang P. 2016.** Full-length genome sequencing analysis of avian infectious bronchitis virus isolate associated with nephropathogenic infection. *Poultry Sci* 95: 2921-2929. doi:10.3382/ps/pew259
  39. **Li M, Wang XY, Wei P, Chen QY, Wei ZJ, Mo ML. 2012.** Serotype and genotype diversity of infectious bronchitis viruses isolated during 1985-2008 in Guangxi, China. *Arch Virol* 157: 467-474. doi: 10.1007/s00705-011-1206-6
  40. **Li H, Li J, Zhai Y, Zhang L, Cui P, Feng L, Yan W, et al. 2020.** Gga-miR-30d regulates infectious bronchitis virus infection by targeting USP47 in HD11 cells. *Microb Pathogenesis* 141: 103998. doi: 10.1016/j.micpath.2020.103998
  41. **Liu S, Xu Q, Han Z, Liu X, Li H, Guo H, Sun N, et al. 2014.** Origin and characteristics of the recombinant novel avian infectious bronchitis coronavirus isolate ck/CH/LJL/111054. *Infect Genet Evol* 23: 189-195. doi: 10.1016/j.meegid-2014.02.015
  42. **Liu S, Zhang X, Gong L, Yan B, Li C, Han Z, Shao Y, et al. 2009.** Altered pathogenicity, immunogenicity, tissue tropism and 32 -7kb region sequence of an avian infectious bronchitis coronavirus strain after serial passage in embryos. *Vaccine* 27: 4630-4640. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.05.072
  43. **Lupini C, Quaglia G, Mescolini G, Russo E, Salaroli R, Forni M, Boldini S, Catelli E. 2020.** Alteration of immunological parameters in infectious bronchitis vaccinated-specific pathogen-free broilers after the use of different infectious bursal disease vaccines. *Poultry Sci* 99: 4351-4359. doi: 10.1016/j.psj.2020.05.054
  44. **Mahmood ZH, Sleman RR, Uthman AU. 2011.** Isolation and molecular characterization of Sul/01/09 avian infectious bronchitis virus, indicates the emergence of a new genotype in the Middle East. *Vet Microbiol* 150: 21-27. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.12.015
  45. **Marandino A, Pereda A, Tomás G, Hernández M, Iraola G, Craig MI, Hernández D, et al. 2015.** Phylodynamic analysis of avian infectious bronchitis virus in South America. *J Gen Virol* 96: 1340-1346. doi: 10.1099/vir.0.000077
  46. **Matoo JJ, Bashir K, Kumar A, Krishnaswamy N, Dey S, Chellappa MM, Ramakrishnan S. 2018.** Resiquimod enhances mucosal and systemic immunity against avian infectious bronchitis virus vaccine in the chicken. *Microb*

- Pathogenesis 119: 119-124. doi: 10.1016/j.micpath.2018.04.012
47. **Mo J, Angelichio M, Gow L, Leathers V, Jackwood MW. 2020.** Validation of specific quantitative real-time RT-PCR assay panel for Infectious Bronchitis using synthetic DNA standards and clinical specimens. *J Virol Methods* 276: 113773. doi: 10.1016/j.jviromet.2019.-113773
  48. **Modiri Hamadan A, Ghalyanchi-langeroudi A, Hashemzadeh M, Hosseini H, Karimi V, Yahyaraeyat R, Najafi H. 2017.** Genotyping of avian infectious bronchitis viruses in Iran (2015–2017) reveals domination of IS-1494 like virus. *Virus Res* 240: 101-106. doi: 10.1016/j.virusres.2017.08.002
  49. **Montassier H. 2010.** Molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus. *Rev Bras Cienc Avic* 12: 87-96. doi: 10.1590/S1516-635X20100-00200003
  50. **Naguib MM, El-Kady MF, Lüschow D, Hassan KE, Arafa A-S, El-Zanaty A, Hassan MK, et al. 2017.** New real time and conventional RT-PCRs for updated molecular diagnosis of infectious bronchitis virus infection (IBV) in chickens in Egypt associated with frequent co-infections with avian influenza and Newcastle Disease viruses. *J Virol Methods* 245: 19-27. doi: 10.1016/j.jviromet.2017.02.018
  51. **Najafi H, Ghalyanchi Langeroudi A, Hashemzadeh M, Madadgar O, Karimi V, Farahani Rk, Abdollahi H, et al. 2016.** Pathogenicity characteristics of an Iranian variant-2 (IS-1494) like infectious bronchitis virus in experimentally infected SPF chickens. *Acta Virol* 60: 393-399. doi: 10.4149/av\_-2016\_04\_393
  52. **Nii T, Isobe N, Yoshimura Y. 2014.** Effects of avian infectious bronchitis virus antigen on eggshell formation and immunoreaction in hen oviduct. *Theriogenology* 81: 1129-1138. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.02.002
  53. **Okino CH, Mores MAZ, Trevisol IM, Coldebella A, Montassier HJ, Brentano L. 2017.** Early immune responses and development of pathogenesis of avian infectious bronchitis viruses with different virulence profiles. *Plos One* 12: e0172275. doi: 10.1371/journal.pone.-0172275
  54. **[OMS] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2021.** Código sanitario para los animales terrestres. [Internet]. Disponible en: <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/?id=169&L=1&htmfile=preface.htm>
  55. **Pohuang T, Tanasatian S, Sasipreeyajan J. 2016.** Efficacy of different vaccination programs of live 4/91 strain against Thai QX-like infectious bronchitis virus in broiler chickens. *Thai J Vet Med* 46: 419-425.
  56. **Quinteros JA, Lee S-W, Markham PF, Noormohammadi AH, Hartley CA, Legione AR, Coppo MJC, et al. 2016.** Full genome analysis of Australian infectious bronchitis viruses suggests frequent recombination events between vaccine strains and multiple phylogenetically distant avian coronaviruses of unknown origin. *Vet Microbiol* 197: 27-38. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.11.003
  57. **Rafique S, Naeem K, Siddique N, Abbas MA, Shah AA, Ali A, Rahim A, Rashid F. 2018.** Determination of genetic variability in avian infectious bronchitis virus (AIBV) isolated from Pakistan. *Pak J Zool* 50: 401-797. doi: 10.17582/journal.pjz/2018.50.2.695.701
  58. **Ren M, Han Z, Zhao Y, Sun J, Liu S, Ma D. 2020.** Multiple recombination events between field and vaccine strains resulted in the emergence of a novel infectious bronchitis virus with decreased pathogenicity and altered replication capacity. *Poultry Sci* 99: 1928-1938. doi: 10.1016/j.psj.2019.11.056
  59. **Rimondi A, Craig MI, Vagnozzi A, König G, Delamer M, Pereda A. 2009.** Molecular characterization of avian infectious bronchitis virus strains from

- outbreaks in Argentina (2001-2008). *Avian Pathol* 38: 149-153. doi: 10.1080/03079450902737821
60. **Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE. 2009.** Diseases of poultry. 12<sup>o</sup> ed. John Wiley & Sons. 1352 p.
  61. **Sasipreeyajan J, Pohuang T, Sirikobkul N. 2012.** Efficacy of different vaccination programs against Thai qx-like infectious bronchitis virus. *Thai J Vet Med* 42: 73-79.
  62. **Seger W, Langeroudi AG, Karimi V, Madadgar O, Marandi MV, Hashemzadeh M. 2016.** Prevalence of avian infectious bronchitis virus in broiler chicken farms in south of Iraq, 2014-2015. *Vet Res Forum* 7: 317.
  63. **Schalk AF, Hawn MC. 1931.** An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J Am Vet Med A* 78: 413-422.
  64. **Toro H, van Santen VL, Li L, Lockaby SB, van Santen E, Hoerr FJ. 2006.** Epidemiological and experimental evidence for immunodeficiency affecting avian infectious bronchitis. *Avian Pathol* 35: 455-464. doi: 10.1080/03079450-601028811
  65. **[USDA]. United States Department of Agriculture. 2021.** Livestock and poultry: world markets and trade Philippines. Foreign Agricultural Service. [Internet]. Available in: <https://www.fas.usda.gov/data/livestock-and-poultry-world-markets-and-trade>
  66. **Valastro V, Holmes EC, Britton P, Fusaro A, Jackwood MW, Cattoli G, Monne I. 2016.** S1 gene-based phylogeny of infectious bronchitis virus: an attempt to harmonize virus classification. *Infect Genet Evol* 39: 349-364. doi: 10.1016/j.meegid.2016.02.015
  67. **Wang Y, Jiang Z, Jin Z, Tan H, Xu B. 2013.** Risk factors for infectious diseases in backyard poultry farms in the Poyang Lake area, China. *Plos One* 8: e67366. doi: 10.1371/journal.pone.-0067366
  68. **Worthington KJ, Currie RJW, Jones RC. 2008.** A reverse transcriptase-polymerase chain reaction survey of infectious bronchitis virus genotypes in Western Europe from 2002 to 2006. *Avian Pathol* 37: 247-257. doi: 10.1080/03079450801986529
  69. **Xia J, He X, Du L-J, Liu Y-Y, You G-J, Li S-Y, Liu P, et al. 2018.** Preparation and protective efficacy of a chicken embryo kidney cell-attenuation GI-19/QX-like avian infectious bronchitis virus vaccine. *Vaccine* 36: 4087-4094. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.05.094
  70. **Xing J, Liu S, Han Z, Shao Y, Li H, Kong X. 2009.** Identification of a novel linear B-cell epitope in the M protein of avian infectious bronchitis coronaviruses. *J Microbiol* 47: 589. doi: 10.1007/s12275-009-0104-z
  71. **Yan S, Sun Y, Huang X, Jia W, Xie D, Zhang G. 2019.** Molecular characteristics and pathogenicity analysis of QX-like avian infectious bronchitis virus isolated in China in 2017 and 2018. *Poultry Sci* 98: 5336-5341. doi: 10.3382/ps/pez351
  72. **Zhang T, Han Z, Xu Q, Wang Q, Gao M, Wu W, Shao Y, et al. 2015.** Serotype shift of a 793/B genotype infectious bronchitis coronavirus by natural recombination. *Infect Genet* 32: 377-387. doi: 10.1016/j.meegid.2015.03.034
  73. **Zhang P, Liu Xuefeng, Liu H, Wang W, Liu Xiaohui, Li X, Wu X. 2018.** Astragalus polysaccharides inhibit avian infectious bronchitis virus infection by regulating viral replication. *Microb Pathogenesis* 114: 124-128. doi: 10.1016/j.micpath.2017.11.026
  74. **Zhou H, Zhang M, Tian X, Shao H, Qian K, Ye J, Qin A. 2017.** Identification of a novel recombinant virulent avian infectious bronchitis virus. *Vet Microbiol* 199: 120-127. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.12.038