

Identificação do vírus de bronquite infecciosa das galinhas através de isolamento em ovos SPF e técnicas de diagnóstico molecular

Daiane Roos¹, Tania Potter Klein², Paulo Augusto Esteves³, Alessandra D'Avila⁴, Livia Silveira Munhoz⁵, Liana Brentano³, Cintia Hironi Okaimo⁶, Iara Maria Trevisol³, Luizinho Caron³ e Virgínia Santiago Silva³

¹Graduanda em Ciências Biológicas pela Fundação Universidade do Contestado, Bolsista Pibic/CNPq

²Assistente de pesquisa Embrapa Suínos e Aves

³Pesquisadores da Embrapa Suínos e Aves

⁴Bolsista Embrapa Suínos e Aves

⁵Bolsista DTI Embrapa Suínos e Aves

⁶Analista da Embrapa Suínos e Aves

Resumo

A bronquite infecciosa das aves (BI) é uma doença infectocontagiosa causada por um vírus da família *Coronaviridae*, o Vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas (VBIG) que se manifesta por meio de complicações respiratórias, renais, reprodutivas e entéricas, acarretando grandes prejuízos econômicos para a avicultura comercial. Para identificar este e outros microorganismos patogênicos tem sido amplamente utilizados métodos de análise de ácidos nucleicos. Desta forma, o presente trabalho objetivou a caracterização molecular de uma cepa do VBIG previamente isolada no laboratório de virologia de aves da Embrapa Suínos e Aves (CNPSA). A amostra de traquéia (P/010/09) era oriunda de aves que apresentavam lesão de necrose da musculatura peitoral. Para o isolamento viral foram utilizados ovos embrionados de galinhas SPF (*Specific Pathogen Free*) com nove dias de incubação. As lesões observadas nos embriões, sete dias pós-inoculação, foram: enrolamento, nanismo e má empenamento. Foi colhido o líquido alantóide dos ovos inoculados para extração de RNA viral e síntese de DNA complementar (cDNA) para posterior amplificação da subunidade S1 da proteína de superfície *Spike* (S) através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). O fragmento de DNA gerado foi visualizado através de eletroforese em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio sob luz U.V. O amplicon obtido foi cortado do gel, purificado e utilizado na reação de seqüenciamento de DNA. As sequências obtidas foram então editadas, utilizadas para montagem dos *contigs* e análise filogenética. Baseado nessas análises a amostra P/010/09 apresentou os seguintes percentuais de identidade quando comparada com a sequência da cepa padrão, a amostra M41: 65% (nucleotídeos) e 63% (aminoácidos). Uma vez que os dados de homologia obtidos dentro do grupo de amostras consideradas clássicas apresentam índices bem maiores do que aqueles encontrados quando comparados os diferentes grupos entre si (91, 93, 98, 99% – aminoácidos - e 96, 98, 99, 100% - nucleotídeos), sugere-se que a amostra objeto do presente estudo seja, provavelmente, uma amostra pertencente ao grupo variante. O baixo percentual de homologia encontrado entre as amostras P/010/09 e M41 é um indicativo da diferença existente entre esse dois tipos de vírus na região estudada (S1). A detecção de tal diferença pode ser uma informação relevante a ser levada em conta caso haja problemas de falha de proteção vacinal quando da utilização de vacinas contra o VBIG do sorotipo Massachusetts (M41) e infecção das aves por cepas virais de campo.

Palavras-chaves: VBIG, isolamento viral, S1, análise filogenética.