



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Detecção de genótipos do vírus da bronquite infecciosa pela transcrição reversa - reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR)
Autor	CAROLINA DIAS RODRIGUES
Orientador	VAGNER RICARDO LUNGE
Instituição	Universidade Luterana do Brasil

A bronquite infecciosa (BI) é uma doença viral altamente contagiosa que apresenta um quadro clínico principal no trato respiratório, mas que também pode afetar órgãos do trato urinário, reprodutivo e digestório de aves de todas as categorias de produção (frangos de corte, poedeiras e reprodutoras). O vírus da bronquite infecciosa (VBI), pertence ao gênero *Gammacoronavirus* da família *Coronaviridae* e possui um genoma de RNA fita simples contendo 27,6 mil bases. O gene da espícula (S) é o mais polimórfico, apresentando grande variação na sequência de nucleotídeos entre cepas de VBI de diferentes locais do mundo devido a eventos de mutação e recombinação gênica. Especificamente no Brasil, três genótipos foram predominantemente encontrados nos últimos anos: vacinal Massachusetts (Mass) e variantes de campo BR-I e BR-II. Ensaio moleculares, como a transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), têm sido crescentemente utilizados na detecção do VBI. No entanto, a genotipagem é realizada apenas pelo sequenciamento do gene S1. O presente estudo teve como objetivo estabelecer e validar metodologia de RT-PCR em tempo real (RT-qPCR) para detecção dos diferentes genótipos de ocorrência no Brasil. Foram obtidas 141 amostras clínicas (traqueias, pulmões, rins, ovários e tonsilas cecais) de aves com BI de diferentes regiões do país. A extração do RNA foi realizada pelo método de adsorção em sílica, utilizando o kit comercial NewGene (Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS, Brasil). A detecção viral foi realizada por RT-qPCR, tendo como alvo a região 5'-UTR do genoma. A genotipagem foi realizada utilizando duas ampliações de RT-qPCR utilizando primers específicos para o genótipo vacinal (Mass RT-qPCR) e genótipos de campo do Brasil (BR RT-qPCR), com uma sonda comum a estes genótipos. Cada amostra foi submetida aos três ensaios (5'-UTR RT-qPCR, Mass RT-qPCR e BR RT-qPCR). Os resultados demonstraram que todas as 141 amostras analisadas foram positivas para VBI. Nos ensaios específicos para os genótipos, 10 amostras apresentaram resultado positivo no Mass RT-qPCR e 79 no BR RT-qPCR, sendo que duas amostras apresentaram resultado positivo em ambos os ensaios (provável infecção mista nas aves avaliadas). As demais 54 amostras foram negativas para ambos os ensaios. Curiosamente, estas últimas apresentaram valores de Ct (*CycleThreshold*) elevados, na sua grande maioria acima de 30, no ensaio de detecção de VBI (5'-UTR RT-qPCR). Em conclusão, os ensaios foram capazes de genotipar o VBI a partir de amostras clínicas, sendo um método mais rápido e prático do que o sequenciamento.