

foi realizado o treinamento para as análises de ELISA e imunodifusão, e em seguida quatro pesquisadores, foram treinados na Universidade da Geórgia. Uma pesquisadora recebeu o treinamento para o diagnóstico anatomopatológico, que busca a identificação da inclusão viral eosinofílica no núcleo das células epiteliais da mucosa conjuntiva e do trato respiratório, sendo essa lesão patognomônica em aves enfermas no estágio inicial da doença (cinco a sete dias após a infecção). Os trabalhos de biologia molecular foram executados segundo o diagnóstico da LTI pela PCR convencional e em tempo real, tendo em vista que são provas rápidas, específicas e sensíveis. Toda a base teórica da PCR foi recordada e com as amostras de raspado de traqueia de aves enfermas, realizou-se um protocolo de extração de DNA, utilizando-se o kit QUIAGEN e, em seguida, foi realizada uma reação de PCR em tempo real e uma de PCR convencional, sendo comparada a sensibilidade analítica de ambas as técnicas. Com base nos resultados, concluiu-se que o protocolo da PCR convencional pode ser aplicado com segurança no diagnóstico da LTI no Brasil, assim como a PCR em tempo real. Para o isolamento viral, dois pesquisadores utilizaram a cultura primária de células de rim de galinha SPF, de três semanas de idade, para observação do efeito citopático característico do vírus e ovos embrionados de galinha SPF de 9-11 dias, inoculados por via membrana corioalantoide (MCA). Os ovos foram incubados e examinados diariamente, para observação do espessamento e formação de lesões tipo *pocks*, na MCA.

¹Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola, Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos
Av. Gaspar Ricardo, 1700, CEP 17690-000, Bastos, SP, Brasil.
E-mail: nilcemarias@gmail.com

²Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, São Paulo, SP, Brasil.

³Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola, Descalvado, SP, Brasil.

Detecção e caracterização do vírus de laringotraqueite infecciosa em um surto em aves de postura no Estado de São Paulo, Brasil*

Detection and characterization of infectious laryngotracheitis virus in an outbreak in laying hens from the state of São Paulo, Brazil

Luciano, R.L.¹; Buim, M.R.²; Del Fava, C.³; Ikuno, A.A.³; Harakava, R.⁴; Ishizuka, M.M.⁵; Buchala, F.G.⁶; Ferreira, A.J.P.⁷; Soares, N.M.²

Laringotraqueite infecciosa das aves (LTI) é uma doença respiratória aguda e altamente contagiosa, causada pelo *Herpesviridae*, *Gallid herpesvirus 1*. Essa enfermidade é responsável por um alto nível de mortalidade e redução na produtividade, em condições de campo. O objetivo deste trabalho foi descrever a caracterização molecular do vírus LTI, envolvido em um surto que ocorreu em aves de postura em Guataporá, Estado de São Paulo, Brasil. Em dezembro de 2009, ocorreu uma doença respiratória aguda, com a presença de muco hemorrágico na traqueia, no final do inverno e início da primavera de 2010, o qual foi reportado ao Serviço Estadual de Saúde Animal. Dezenove pools de amostras (três cabeças/pool) provenientes de oito lotes com sintomas clínicos e suspeita epidemiológica de LTI foram coletados. Essas amostras foram analisadas por histopatologia e PCR convencional. De 19 lotes estudados, a análise histopatológica revelou a presença de células sinciciais com corpúsculos de inclusão no epitélio traqueal em 57,9% (11/19) das amostras. A presença do vírus foi demonstrada por técnicas moleculares: PCR convencional

e sequenciamento parcial do gene ICP4 (688 bp). Treze amostras de campo foram positivas no PCR (68,4%). Dessas, nove (69,2%) foram confirmadas pela histopatologia. Adicionalmente, o DNA das 13 amostras de campo foi sequenciado, revelando uma deleção de nove nucleotídeos (nt) na posição 734-742 e uma inserção de 12 nt (posição 271-283) na sequência viral. Esse perfil foi diferente das amostras disponíveis no GenBank (número de acesso EU104909) e das duas vacinas comerciais: CEO Nobilis-ILT/Intervet (número de acesso FJ477351) e TCO LTI-IVAX/Schering-Plough (número de acesso FJ477349). A associação da histopatologia e das análises moleculares foi importante para o diagnóstico agudo e crônico da LTI nos lotes estudados. O PCR foi altamente sensível na detecção do vírus da LTI, enquanto a histopatologia foi específica na identificação das lesões características desse agente. A estirpe viral encontrada em Guataporá foi geneticamente diferente das vacinas comerciais e outras amostras de campo detectadas em outros surtos no Brasil. Esses resultados são importantes ferramentas laboratoriais para o diagnóstico da LTI, servindo como base para a adoção de medidas de controle por parte do programa oficial de sanidade avícola.

*Suporte financeiro: CNPq (Processo N° 578354/2008-0).

¹Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola, Rua Bezerra Paes, 2278, CEP 13690-000, Descalvado, SP, Brasil.
E-mail: rluciano@biologico.sp.gov.br

²Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola, Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos, Bastos, SP, Brasil.

³Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, São Paulo, SP, Brasil.

⁴Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, São Paulo, SP, Brasil.

⁵Comitê Estadual de Sanidade Avícola, São Paulo, SP, Brasil. ⁶Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo, Campinas, SP, Brasil.

⁷Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia, São Paulo, SP, Brasil.

Caracterização de um modelo murino para avaliação clínica e anatomopatológica de camundongos experimentalmente infectados com o vírus da encefalite de Saint Louis

Characterization of a murine model for clinical and pathological evaluation of mice experimentally infected with the Saint Louis encephalitis virus

Costa, E.A.^{1*}; Rosa, R.¹; Oliveira, T.S.²; Furtini, R.²; Paixão, T.A.³; Santos, R.L.¹

O recente isolamento do vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV) em um equino que apresentou sinais neurológicos no Estado de Minas Gerais objetivou a necessidade da caracterização *in vivo* desse arbovírus no País, visto seu amplo potencial epidêmico e epizootico. Estoques virais foram produzidos por inoculação do homogeneizado do tecido cerebral do equino infectado pelo SLEV em células de mosquito da linhagem C6/36. Sete grupos de seis camundongos suíços neonatos foram infectados via intracerebral (ic) com o estoque viral a uma concentração de 1.0×10^3 FFU C6/36/ $4 \mu\text{L}$ /camundongo. Os tecidos cerebrais dos animais que vieram a óbito ou que foram sacrificados sete dias pós-infecção (dpi) foram homogeneizados (pool), clarificados, filtrados e utilizados como inóculo para o segundo grupo de camundongos (P2) e assim sucessivamente