ESTUDO MOLECULAR POR REAL TIME PCR E FILOGENIA DE VÍRUS DE LARINGOTRAQUEÍTE AVIÁRIA. BUIM, M.R.*; DELFAVA, C.**; GUASTALLI, E.A.L.*

*Instituto Biológico, Laboratório Especializado em Sanidade Avícola, Av. Gaspar Ricardo, 1700, CEP 17690-000, Bastos, SP, Brasil. **Instituto Biológico, Centro de Pesquisa de Sanidade Animal, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-900, São Paulo, SP. E-mail: marcosbuim@biologico.sp.gov.br. ***Molecular study for Real Time PCR and filogenetic of avian LTI.***

Laringotraqueíte infecciosa (ILT) é uma enfermidade respiratória causada pelo *Gallid herpesvirus*, que causa sérias perdas econômicas na indústria avícola, devido à alta mortalidade e morbidade das aves afetadas, perda de peso com decréscimo de produção e suscetibilidade das aves afetadas a outros patógenos respiratórios. É uma enfermidade de notificação obrigatória, cujo controle é baseado em medidas de biossegurança e em programas de vacinação que utilizam vacinas vivas atenuadas, produzidas em ovos embrionados (CEO) ou em cultivo celular (TCO) e vacinas vetorizadas. Diferentes técnicas moleculares podem ser aplicadas no diagnóstico, como a PCR convencional, Real Time PCR, a PCR-RFLP e o sequenciamento, que tem grande poder discriminatório, permitindo estudos filogenéticos que podem indicar as alterações e modificações, deleções ou inserções, assim como a emergência de novas cepas. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo molecular de amostras de vírus de LTI colhidos no Bolsão de Bastos, visando à caracterização das amostras e consequente avaliação da situação dessa enfermidade na região. As amostras clínicas foram colhidas de 52 propriedades do Bolsão de Bastos, de lotes de aves em diferentes fases de produção, por meio de suabes traqueais e o diagnóstico realizado por Real Time PCR, utilizando-se os primers descritos por Callison et. al. 2007. Foram realizadas 750 reações de Real Time PCR para LTI e para realizar a caracterização molecular das amostras optou-se pelo sequenciamento e, para tal, foram utilizados os genes ICP4 (fragmento 1 e 2). O produto amplificado do DNA das amostras foi purificado, quantificado em gel e, então, submetido para o sequenciamento. As sequências obtidas foram editadas e analisadas usando-se o programa CLC Main Workbench 7.6.4, editadas e comparadas com outras, utilizando-se o programa Blast, confirmando que correspondem ao gene pesquisado. Assim, após essa análise, as sequências obtidas foram alinhadas com outras, utilizando-se o programa Clustal e Mega 6.0, finalizando com o estudo filogenético destes. Das 750 reações de Real Time PCR para LTI obteve-se um resultado com um pequeno número de amostras positivas, apenas 18. A análise filogenética nos permite observar que a maioria das sequências (7 de 10), pertencem a cepas diferentes das cepas vacinais CEO e TCO, estando, assim, agrupadas próximas às sequências de amostras de campo isoladas na região de Bastos. Apesar do massivo programa de vacinação utilizado no plantel, um pequeno número de amostras (três) foi identificado com similaridade às cepas vacinais TCO. Estes resultados sugerem que a presença de cepas de campo e vírus vacinais no plantel é um indicativo de que as medidas de biossegurança devem ser mantidas, pois apesar de não serem identificados sinais clínicos da infecção, o vírus se mantém latente, por período indeterminado, podendo ser reativado em momentos de stress ou situações adversas durante a vida da ave.