

PROPAGAÇÃO DO VÍRUS DE NEWCASTLE EM OVOS EMBRIONADOS DE CODORNA JAPONESA (*Coturnix coturnix japonica*)

**RENATA KARINA MARCONI MARCANÇOLI¹; RAULENE RODRIGUES LOBO²;
FERNANDA SOUZA²; ALICE MEIRELLES LEITE²; GILBERTO D'AVILA
VARGAS³**

¹Universidade Federal de Pelotas – renata_kmm_@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas

³Universidade Federal de Pelotas – gdavilavargas@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Ovos embrionados de galinha foram introduzidos na bateria de técnicas virológicas em 1940 e rapidamente se tornaram um dos fatores principais no progresso sucedido. Apresentavam vantagens consideráveis sobre os sistemas animais usados até então (coelhos, cobaios e camundongos): um meio vivo, altamente sensível a vários vírus; sistema fechado, teoricamente estéril e pode ser obtido e manipulado em grandes quantidades. A inoculação in ovo pode ser feita por diferentes vias, que correspondem às sensibilidades e aos diferentes graus de adaptação de vários vírus (MANGUERRA et al, 1999)., 2010).

Assim como os ovos embrionados de galinha, ovos embrionados de codornas também podem ser utilizados para fins de pesquisa, na inoculação de diversos tipos de vírus, em diferentes vias, sendo necessário algumas modificações nas técnicas conhecidas e utilizadas em ovos embrionados de galinha (*Gallus gallus domesticus*) (RAUSCHER et. al., 1962). Algumas vantagens podem ser atribuídas no emprego dos ovos embrionados de codorna em comparação aos de galinha para fins laboratoriais: custo menor de produção, menor tempo de incubação, necessidade de menor espaço físico e, talvez a mais importante, ser de uma espécie diferente do *Gallus domesticus* e não portadora de antígenos e anticorpos de interesse na avicultura comercial moderna, não interferindo no diagnóstico e na replicação viral.

Atualmente mesmo com modernas técnicas virológicas de diagnóstico, a utilização de ovos embrionados é considerada padrão ouro para diagnóstico de doenças de grande impacto na avicultura como doença de Newcastle. Pertencente à família *Paramyxoviridae*, o Newcastle é um vírus envelopado constituído por uma molécula de RNA linear de fita simples com polaridade negativa, considerado de grande relevância na Medicina Veterinária tanto pela sua alta prevalência como pelo seu impacto econômico (MAYO, 2002).

2. METODOLOGIA

Inicialmente utilizou-se uma amostra vacinal liofilizada do vírus da doença de Newcastle (vírus LA-Sota) produzida em ovos embrionados de galinha cedida pelo laboratório Bio-Vet S/A, a qual foi reconstituída em 3 ml de meio essencial mínimo (MEM) estéril (pH 7.0). As inoculações foram feitas aos 7 dias de incubação com a cepa lentogênica do vírus da doença de Newcastle (NDV) pela cavidade corio-alantóide. Foram utilizados quatro volumes de vírus, (20, 40, 80 e 100µl/dose), três períodos de incubação (24, 48 e 72 horas) com seis repetições que totalizaram 72 ovos. Após o processo de inoculação e incubação foram realizadas ovoscopias diárias para verificação de mortalidade embrionária. Em cada período da incubação coletou-se líquido alantóide e

forma asséptica - C realização da titulação viral, que foi realizada através do teste de Hemaglutinação (HA), conforme o descrito por Alexander (1989).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstrados foram dependentes do tempo de incubação e do volume utilizado (20, 40, 80 e 100µl/dose). O melhor tempo de incubação foi de 72 horas, sendo superior ao controle de vírus (zero hora), 24 e 48 horas proporcionando títulos virais mais elevados ($P < 0,0001$). Schiavo et. al., (2001), utilizou ovos embrionados de galinha para a produção de antígeno viral de Newcastle e que o melhor momento para a coleta de líquido alantóide foi às 96 horas pós-inoculação. Segundo Lennete (1995) os vírus quando inoculados na cavidade alantóica se propagam nas células endodérmicas da membrana alantóide com subsequente liberação de vírus no fluido alantóico. Portanto, tanto a membrana quanto o fluido alantóico podem ser usados como fontes de vírus. O protocolo oficial "O International de Epizooties - OIE" (8) x b çã pós-inoculação viral com embriões de galinha de 96 até 168 horas.

4. CONCLUSÕES

Neste estudo, os ovos embrionados de codorna foram eficientes para replicação do vírus da doença de Newcastle. Estes embriões mostram-se aptos também para serem utilizados em cultivo primário de fibroblastos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MANUGUERRA, J. C., HANNOUN, C. Grippe; et autres viroses respiratoires. **Institut Pasteur**.p.187, 1999.

MAYO M.A. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. **Archives of Virology**, v. 147, p.1655 - 6, 2002.

RAUSCHER, F.J.;REYNIERS, J.A.; SACKSTEDER, M. R. Japanese quail egg embryo as a host for viruses. **Jounaul of Bacteriology**, v. 84, 1134 – 1139, 1962.