

AMARILIS NOVAES D'ELBOUX BUNGER

**DETECCÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO GENE3 E
5 DOCORONAVÍRUS DE PERUS (TCOV) ISOLADOS DE PERUS
COM SEVERA ENTERITE NO BRASIL**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências (Microbiologia).

São Paulo
2009

AMARILIS NOVAES D'ELBOUX BUNGER

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO GENE3 E 5
DOCORONAVÍRUS DE PERUS (TCOV) ISOLADOS DE PERUS COM
SEVERA ENTERITE NO BRASIL**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira

São Paulo
2009

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Bunger, Amarilis Novaes D'Elboux.

Detecção e caracterização molecular do gene 3 e 5 do coronavírus de perus (TCoV) isolados de perus com severa enterite no Brasil / Amarilis Novaes D'Elboux Bunger. -- São Paulo, 2009.

Orientador: Antonio José Piantino Ferreira.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de pesquisa: Doenças aviárias.

Versão do título para o inglês: Detection and molecular characterization of gene 3 and 5 of turkey coronavirus (TCoV) from turkeys with severe enteritis in Brazil.

Descritores: 1. Coronavírus de peru 2. Gene 3 3. Gene 5 4. Análise filogenética 5. Caracterização molecular 6. RT-PCR I. Ferreira, Antonio José Piantino II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia III. Título.

ICB/SBIB093/2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Amarilis Novaes D'Elboux Bungler.

Título da Tese: Detecção e caracterização molecular do gene 3 e 5 do coronavírus de perus (TCoV) isolados de perus com severa enterite no Brasil.

Orientador(a): Antonio José Piantino Ferreira.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado(a)

Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:

A minha família:

*Meu pai José, minha mãe Neyde e meu irmão Rogério que sempre estão
ao meu lado me apoiando e me dando forças para seguir adiante.*

*Meu marido Guilherme, amor da minha vida, com o qual
divido minhas angústias e minhas felicidades.*

Ao meu filho Vinícius, razão do meu viver.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por que sei que andas comigo sempre e nos momentos mais difíceis me carrega em seus braços.

Ao Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira, pelos ensinamentos, apoio, paciência e compreensão nestes anos que trabalhamos juntos.

A Claudete Astolfi Ferreira pelo apoio, sugestões, orientações e atenção.

Ao Jorge Chacon, grande amigo e pesquisador, pela sua amizade e auxílios prestados.

Aos professores Andrea Micke Moreno, Paulo Eduardo Brandão e José Antonio Jerez por emprestar seus laboratórios e compartilhar seus conhecimentos.

Aos secretários do Departamento de Microbiologia e Pós-Graduação do Instituto de Ciências da USP: Alice e Celso pelo apoio e ajuda.

A todos os professores e funcionários da USP que me ajudaram na realização deste trabalho.

RESUMO

BUNGER, A. N. D. **Detecção e Caracterização Molecular do gene 3 e 5 do Coronavírus de Perus (TCoV) isolados de perus com severa enterite no Brasil.** 2009. 51 f. Tese - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

O coronavírus de perus (TCoV) é o agente etiológico associado a síndrome de mortalidade entérica das aves (PEMS). PEMS é uma enfermidade entérica, aguda e altamente contagiosa dos perus caracterizada por depressão, anorexia, diarreia e alta mortalidade em lotes de perus comerciais. A presença do coronavírus de perus (TCov) foi pesquisada em 29 amostras de conteúdo intestinal de perus entre 10 e 104 dias de idade que apresentaram enterite severa no período de 2004 a 2006. A detecção do TcoV foi realizada através da técnica da transcriptase reversa e da reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR), mediante a amplificação da região 3' UTR, seguida pela amplificação dos genes 3 e 5. A caracterização molecular dos vírus foi realizada mediante a amplificação dos genes 3 e 5, que mostrou similaridade genética entre as amostras, mas diferenças com as sequências dos outros TCoVs publicados previamente. Em relação ao gene 3, as amostras apresentaram maior relação com o vírus da bronquite infecciosa das aves (IBV), enquanto que com o gene 5 houve maior identidade com os coronavírus de faisão (PhCoV). Nossos resultados sugerem que a estratégia de amplificação da região 3' UTR provou ser uma estratégia eficaz para a detecção do TcoV em conteúdo intestinal.

Palavras-chave: Turkey coronavírus. Gene 3. Gene 5. Análise filogenética. Caracterização molecular. RT-PCR.

ABSTRACT

BUNGER, A. N. D. **Detection and Molecular characterization of gene 3 and 5 of Turkey Coronavirus (TCoV) from turkeys with severe enteritis in Brazil.**2009. 51 p. Ph. D. Thesis - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Turkey coronavirus (TCoV) is causative agent associated to Poult Enteritis and Mortality Syndrome (PEMS) in turkeys worldwide. The disease is characterized by an acute highly contagious enteric disease of turkeys characterized by depression, anorexia, diarrhea and high mortality in commercial turkey flocks. The presence of turkey coronavirus (TCoV) in 29 intestinal content samples from turkey flocks aged between 10 and 104 days with severe enteritis was monitored in the period of 2004 to 2006. TCoV detection was accomplished by the reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), through amplification of the 3'UTR region, followed by amplification of genes 3 and 5. Molecular characterization of the viruses was done through amplification of genes 3 and 5, and showed evidence of genetic similarity between them, although they differed of sequences of other TCOVs described in the literature. In relation to gene 3, samples showed greater relationship with chicken infectious bronchitis virus (IBV), and while gene 5 showed greater identity with pheasant coronavirus (PhCoV). Our results suggest that the strategy of amplification of the 3'UTR region has proved to an effective means of detection of TCoV in intestinal contents.

Key words: Turkey coronavirus. Gene 3. Gene 5. Phylogenetic analysis. Molecular characterization. RT-PCR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Desenho esquemático do coronavírus (www.nature.com/.../n12/fig_tab/nri1732_F1.html)	18
Figura 2- Organização genômica do coronavírus de humano 229E (HCoV 229E) (coronavírus do grupo 1), coronavírus da Hepatite de Murinos (MHV) (coronavírus do grupo 2) e coronavírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas (IBV) (coronavírus do grupo 3) (CAVANAGH et al., 2001)	20
Figura 3- Cromatograma gene 3	32
Figura 4- Cromatograma gene 5	34
Figura 5- Árvore filogenética para o gene 3	37
Figura 6- Árvore filogenética para o gene 5	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Primers que foram utilizados para a amplificação da região 3'UTR	25
Tabela 2- Primers utilizados para a amplificação do Gene 3 e do Gene 5	26
Tabela 3- Relação das amostras utilizadas, sinais e lesões clínicas das aves e resultados obtidos para os genes 3, 5 e para a região 3'UTR.....	29
ANEXO A – TABELAS	49
Tabela A.1 - Identidade dos nucleotídeos do gene 3 dos coronavírus de perus (TCoV) brasileiros comparados com o gene 3 do IBV, PhCoV and TCoV de diferentes regiões.	50
Tabela A.2 - Identidade dos nucleotídeos do gene 5 dos coronavírus de perus Brasileiros (TCoV) comparados com o gene 5 de outras sequencias de coronavírus.....	51

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

