

Título: Cultivo de células CRFK para a produção viral de Coronavírus em meios de cultura sem soro

Autores: CARMO, L.C.S.; ALVES, T.M; DAMASCENO, L.M.

Instituição: Ceva Veterinária (Rodovia MG-050, Km 18,5, 2001 – Distrito Industrial, Juatuba – MG, Brasil)

Resumo:

A Coronavirose Canina é uma doença que pode ser transmitida por duas espécies do Coronavírus, sendo mais comum o Coronavírus entérico canino (*canine coronavirus-CCoV*) que causa enterite canina, uma inflamação intestinal de leve a grave. Outro vírus que acomete os cães é o coronavírus respiratório canino (*canine respiratory coronavirus-CRCoV*), associado aos sinais respiratórios nos cães, responsável pela “tosse dos canis” ou “traqueobronquite infecciosa canina”. Estes vírus são envelopados, esféricos, aproximadamente 120 nm, contendo um genoma de RNA de fita única de sentido positivo de aproximadamente 30 kb. Atualmente, a produção da suspensão viral de Coronavírus, destinada à produção de vacinas para a prevenção de doenças em cães, é realizada utilizando células CRFK como hospedeiras para a multiplicação viral, cultivadas em meio de cultura Dulbecco's contendo soro fetal bovino (SFB) em concentrações de até 10% (v/v). Neste trabalho, avaliamos a viabilidade de cultivar as células CRFK, bem como produzir o Coronavírus, usando dois meios comerciais: VP e Opti Pro (GIBCO); meios livres de componentes animais. Meio de cultura convencional contendo SFB, foi usado como o controle. As células foram inicialmente submetidas a um período de adaptação usando VP ou Opti Pro suplementados com SFB. Durante o período de adaptação, a concentração de SFB foi reduzida gradativamente de 10% (v/v) até 0,75% (v/v). Abaixo desta concentração de soro foi observada instabilidade no crescimento das células. Após a adaptação das células, foi realizada a infecção com o Coronavírus na diluição 1:4,5, em garrafas para cultura celular T75, com os meios VP e Opti Pro acrescidos com 0,75% SFB. Após o período de incubação, as garrafas foram congeladas a temperatura de -20°C, por 48 horas. Após descongelamento das garrafas em temperatura ambiente, as suspensões virais foram homogeneizadas e tituladas pelo método TCID₅₀. Os resultados obtidos no teste de titulação foram: 10^{4,71} TCID₅₀/mL para a suspensão viral com o meio de cultura VP; 10^{5,52} TCID₅₀/mL para o meio de cultura Opti Pro; e 10^{5,28} TCID₅₀/mL para o meio de cultura padrão. A partir dos resultados de titulação obtidos, conclui-se que o meio de cultura Opti Pro apresentou uma melhor performance na produção de Coronavírus em comparação aos meios VP e padrão. Com relação ao cultivo, as células cultivadas em meio Opti Pro ficaram semelhantes quanto a confluência e morfologia, às células cultivadas com o meio padrão.

Palavras-chave: meio de cultura sem soro, VP, Opti Pro, células CRFK, Coronavírus

Agência de Desenvolvimento: Ceva Veterinária, Campus Juatuba.