

## DETECÇÃO MOLECULAR DE ADENOVÍRUS EM AVES DE HÁBITOS AQUÁTICOS NO RIO GRANDE DO SUL

RAPHAEL BITENCOURT FERNANDES SILVA<sup>1</sup>; GABRIEL DA SILVA ZANI<sup>2</sup>;  
CARLOS ALEXIS GUARDADO MARTINEZ<sup>3</sup>; LEONARDO CLASEN RIBEIRO<sup>4</sup>;  
MARCELO DE LIMA<sup>5</sup>; GILBERTO D'ÁVILA VARGAS<sup>6</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – raphaelb130903@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – gzani27@gmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – carlosajr1027@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – leonardo.clasen@gmail.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas – mdelima.ufpel@gmail.com*

<sup>6</sup>*Universidade Federal de Pelotas – gdavilavargas@gmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

O Adenovírus (AdV) pertence à família *Adenoviridae* (ICTV, 2022). Sua estrutura se caracteriza por um capsídeo icosaédrico desprovido de envelope, com seu genoma em forma de DNA fita dupla e linear, com comprimento de 25 a 48 kb. A sua replicação ocorre no núcleo da célula hospedeira e é liberado por meio de lise celular. A transmissão do vírus ocorre de forma direta e indireta, por via fecal-oral ou respiratória, uma vez que é secretado nas excreções de animais infectados (HESS, 2000).

Os adenovírus contam com diversas espécies de hospedeiros, desde seres humanos até animais domésticos e silvestres, incluindo aves. Dentre os diversos gêneros, aqueles que acometem aves são os *Siadenovirus*, *Atadenovirus* e *Aviadenovirus* (HARRACH *et al.*, 2022). No geral, a sua patogenia é branda, com a maior parte dos casos sendo relacionadas a sinais respiratórios leves como manifestação clínica. Em relação a aves infectadas, também são relatados edemas pulmonares, lesões esplênicas, distúrbios do trato gastrointestinal, como diarreia hemorrágica, hepatites e síndrome da queda de postura em aves de produção. A taxa de mortalidade é variada e depende do gênero infectante, assim como o nível de imunossupressão do hospedeiro (FLORES, 2007).

O relato da presença de Adenovírus em aves de vida livre na natureza é de suma importância à medicina veterinária, pois além da ameaça de populações silvestres com possíveis patógenos, existe também a preocupação quanto às perdas que o risco da infecção pelo Adenovírus pode represnetar para a indústria de produção de aves (MCFERRAN; SMYTH, 2000).

No presente estudo, foi realizada a detecção molecular por meio do processo de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) a partir de amostras retiradas de 12 aves de 7 diferentes espécies de aves silvestres, consistindo em: 4 Gruiformes (*Fulica Armillata*, *Gallinula Melanops*, *Pardirallus Sanguinolentus*, *Pardirallus Maculatus*), 2 Pelicaniformes (*Ardea Cocoi*, *Tigrisoma Lineatum*) e uma Anseriforme (*Chauna Torquata*).

### 2. METODOLOGIA

Para a realização do estudo, foram coletadas amostras de swabs da região cloacal de 12 aves oriundas do Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre da Universidade Federal de Pelotas (NURFS - UFPEL), entre dezembro de 2021 e novembro de 2022. Durante o tempo aproximado de um ano, todos materiais

coletados foram refrigerados e levados ao Laboratório de Virologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LabVir - UFPel), onde foram mantidos congelados sob a temperatura de -80°C em ultrafreezer.

Em primeiro momento, para a identificação da presença do vírus, foi feita a extração do material genético das amostras por meio do kit *ID Vet Diagnostics*<sup>TM</sup> (USA), através das instruções do fabricante. Uma vez extraído, o material foi submetido à Reação em Cadeia da Polimerase, usando um pan-adeno nested-PCR. Na primeira amplificação, foram usados 25 µL de reação, com 12,5 µL de GoTaq® Colorless Master Mix, 5,5 µL de água ultrapura e 2 µL de amostra purificada, além de 2,5 µL de cada um dos seguintes primers: 5'-TNMGNGGNGGNMGNTGYTAYCC-3' (Forward 1) e 5'-GTDGCRAANSH5'-TNMGNGGNGGNMGNTGYTAYCC-3' (Reverse 1). A reação foi, então, submetida ao processo de termociclagem de acordo com as condições descritas na tabela 1. Para a segunda etapa de amplificação, foram empregadas as mesmas proporções de mistura da primeira polimerização, bem como 2 µL do produto da primeira etapa e os primers: 5'-GTNTWYGAYATHTGYGGHATGTAYGC-3' (Forward 2) e 5'-CCANCCBCDRTRRTGNARNGTRA-3' (Reverse 2), sendo em seguida, encaminhada para o termociclador sob as mesmas condições da última reação.

Por fim, os produtos passaram pela técnica de eletroforese em gel de agarose com 1,5% de concentração a 120 V durante 40 minutos, posteriormente corado com Brometo de Etídio e visualizado em transiluminador com luz ultra violeta. Para as reações positivas, era esperado o aparecimento de um amplicon próximo dos 320 pares de base (WELLEHAN *et al.*, 2004).

Tabela 1. Condições de termociclagem (primeira e segunda polimerização)

Etapas	1	2	3	4	5	6
Temperatura	94°C	94°C	48°C	72°C	72°C	4°C
Tempo	5 min	30 seg	30 seg	1min	7 min	∞
Repetição	1x		45x		1x	-

1 – Desnaturação inicial; 2 – Desnaturação; 3 – Anelamento; 4 – Extensão; 5 – Extensão final; 6 – Hold.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De duas amostras provindas de Anseriformes (*Anas flavistrostris*, Marrecapardinha e *Chauna torquata*, Tachã), apenas a segunda forneceu resultado positivo. Amostras de ambas as espécies de Pelicaniformes demonstraram a presença do vírus, sendo uma vinda de um *Ardea cocoi* (Garça-moura) e outra de um *Tigrisoma lineatum* (Socó-boi). Já no grupo dos Gruiformes, as espécies *Gallinula melanops* (Galinha-d'água'carijó) e *Pardirallus sanguinolentus* (Saracura-do-banhado) manifestaram duas amostras positivas cada, um resultado positivo vindo, respectivamente, das espécies *Pardirallus maculatus* (Saracura-carijó) e *Fulica armillata* (Carqueja-de-bico-manchado) e uma amostra isenta de Adenovírus vinda das espécies *Aramides cajaneus* (Saracura-três-potes) e *Aramus guarauna* (Carão), de acordo com o enunciado na tabela 2.

Além de serem peças importantes para a manutenção da biodiversidade e dos ecossistemas em que habitam, as aves aquáticas também têm papel principal na saúde. A sua presença ou ausência pode indicar a qualidade da água ou poluição (BRANCO, 2007) e algumas espécies são passíveis de agir como reservatório para

doenças possivelmente endêmicas, podendo atingir seres humanos ou outras aves, incluindo espécies domésticas (SAKODA, 2012).

Embora a maioria dos adenovírus infecte apenas uma espécie hospedeira específica ou um grupo muito específico delas, quando ocorrem eventos de "host switch", há troca de hospedeiros entre espécies selvagens e domésticas, geralmente resultando em surtos de doenças de patogenia significativa. Tendo isso em vista, esses vírus significam uma potencial ameaça tanto à preservação de espécies selvagens, já em perigo devido à perda de habitat e outros impactos da ação humana, quanto à indústria avícola comercial (KAJÁN *et al.*, 2020).

Tabela 2. Descrição do diagnóstico de amostras ao Adenovírus

Ordem	Espécie	Nº de amostras	Nº de positivos
Anseriforme	<i>Anas flavistrostris</i>	1	0
	<i>Chauna torquata</i>	1	1
	<i>Aramides cajaneus</i>	1	0
	<i>Aramus guarauna</i>	1	0
Gruiforme	<i>Fulica armillata</i>	1	1
	<i>Gallinula melanops</i>	2	2
	<i>Pardirallus sanguinolentus</i>	2	2
	<i>Pardirallus maculatus</i>	1	1
Pelecaniforme	<i>Ardea cocoi</i>	1	1
	<i>Tigrisoma lineatum</i>	1	1

#### 4. CONCLUSÕES

O trabalho, portanto, por meio do uso de técnica de PCR, identificou a presença de Adenovírus em aves de hábitos aquáticos e vida livre, cumprindo seu propósito ao elucidar a importância que esses animais representam a saúde pública e à economia industrial avícola, ao levantar a possibilidade de infecções por meio destas.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ICTV – **International Committee on Taxonomy of Viruses**. Acessado em 10 de setembro de 2023. Online. Disponível em: <<https://ictv.global/report/chapter/adenoviridae/adenoviridae>>.

WALKER, P.J., SIDDELL, S.G., LEFKOWITZ, E.J., *et al.* Recent changes to virus taxonomy ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Arch Virol**. v. 167, p. 2429-2440, 2022.

HESS, M., Detection and differentiation of avian adenoviruses: A review. **Avian Pathology**, v. 29, n. 3, p. 195-206, 2000.

HARRACH, B., WATANABE, H., WADELL, G, *et al.*, ICTV Virus Taxonomy Profile: Adenoviridae 2022. **Journal of General Virology**, v. 103, n. 3, p. 001712, 2022.

FLORES, E.F., Virologia Veterinária. In: MORAES, M.P., da COSTA, P.R. **Adenoviridae**. Santa Maria: UFSM, 2007. Cap. 16, p. 413-432.

MCFERRAN, J.B., SMYTH, J.A. Avian Adenoviruses. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 19, n. 2, p. 589-601, 2000.

WELLENAN, J.F.X., JACOBSON, E.R., JOHNSON, W.J., *et al.* Detection and Analysis of Six Lizard Adenoviruses by Consensus Primer PCR Provides Further Evidence of a Reptilian Origin for the Atadenoviruses. **Journal of Virology**, v. 78, n. 23, p. 13366-13369, 2004.

BRANCO, J.O. Avifauna aquática do Saco da Fazenda (Itajaí, Santa Catarina, Brasil): uma década de monitoramento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 4, p. 873-882, 2007.

GRACZYK, T.K., MAJEWSKA, A.C., SCHWAB, K.J., The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. **Trends in Parasitology**, v. 24, n. 2, p. 55-59, 2008.

SAKODA, Y.; ITO, H.; UCHIDA, Y.; OKAMATSU, M.; *et al.* Reintroduction of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus by migratory water birds, causing poultry outbreaks in the 2010–2011 winter season in Japan. **Journal of General Virology**, v. 93, p. 541-550, 2012.

ABPA – **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Relatório anual 2023. Acessado em 10 de setembro de 2023. Online. Disponível em: <<https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/04/Relatorio-Anual-2023.pdf>>.

KAJÁN, G.L., DOSZPOLY, A., TARJÁN, Z.L., VIDOVSZKY, M.Z., *et al.* Virus–host coevolution with a focus on animal and human DNA viruses. **Journal of molecular evolution**, v. 88, p. 41-56, 2020.