

OCORRÊNCIA DE ADENOVÍRUS EM AVES SILVESTRES NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL

GABRIEL DA SILVA ZANI¹; CARLOS ALEXIS GUARDADO MARTINEZ²;
LEONARDO CLASEN RIBEIRO³; RAQUELI TERESINHA FRANÇA⁴; GILBERTO
D'ÁVILA VARGAS⁵; MARCELO DE LIMA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – gzani27@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carlosajr1027@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – leonardo.clasen@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – raquelifranca@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – gdavilavargas@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – mdelima.ufpel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os adenovírus são um grupo vírus não-envelopados com genoma DNA de fita dupla linear de 24 a 46 kbp. Atualmente, são subdivididos em cinco gêneros: *Aviadenovirus* (possuindo como hospedeiros as aves), *Mastadenovirus* (infectando principalmente mamíferos), *Atadenovirus* (encontrado em aves, répteis, ruminantes e marsupiais), *Siadenovirus* (detectado em répteis, pássaros e sapos) e *Ichtadenovirus* (acometendo peixes) (BENKO et al., 2022; FITZGERALD, 2020).

De um modo geral, as infecções por adenovírus possuem pouca relevância clínica em aves saudáveis, entretanto, quando associadas a fatores imunossupressores podem acarretar quadros patológicos importantes (KISS et al., 2021). Contudo, algumas cepas atuam como patógenos primários produzindo síndromes como a bronquite das codornas e erosões de moela em frangos (relacionadas FAdV-1), síndrome da hepatite-hidropericárdio (FAdV-4), hepatite por corpúsculo de inclusão (*Aviadenovirus* espécies D e E). Também se somam a enterite hemorrágica dos perus, doença do baço marmóreo nos faisões e esplenomegalia de frangos do gênero *Siadenovirus*, e o vírus da síndrome da queda de postura (EDS-76) pertencente ao *Atadenovirus* (FITZGERALD, 2020).

Embora os adenovírus de aves selvagens sejam menos conhecidos e caracterizados em comparação com aves de produção, diversos estudos já demonstram a existência de uma ampla gama de espécies adaptadas a hospedeiros silvestres, como o *Falcon adenovirus A* (FaAdV-1), *Goose adenovirus A* (GoAdV-1), *Pigeon adenovirus* (PiAdV-1), *Psittacine aviadenovirus* (PsAdV), entre inúmeros outros (ATHUKORALA et al., 2022; HESS, 2017).

Considerando as implicações da ocorrência de infecções por adenovírus para a conservação de espécies e o risco de transmissão a criações comerciais, o objetivo do presente trabalho foi realizar a detecção do genoma de adenovírus em amostras clínicas de aves silvestres coletadas na região sul do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2021 e 2022.

2. METODOLOGIA

Foram coletados *swabs* cloacais de aves provenientes do Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre (NURFS), entre os meses de dezembro de 2021 a novembro de 2022, totalizando 204 animais coletados. Após as coletas, as

amostras foram mantidas refrigeradas até a chegada ao laboratório, quando foram armazenadas a -80°C, até o seu processamento.

Para a pesquisa do genoma viral, o material genético das amostras foi extraído utilizando o *kit* comercial *ID Vet Diagnostics™ (USA)*, seguindo as recomendações do fabricante. Então, o produto da extração foi submetido a um pan-adenovirus *nested-PCR* descrito por WELLEHAN et al. (2004). Para a primeira amplificação, utilizou-se 25 µL de reação, contendo 12,5 µL de mix (GoTaq® Colorless Master Mix), 5.5 µL de água ultrapura, 2 µL de amostra e 2.5 µL de cada um dos seguintes *primers*, *forward* 1: 5'-TNMGNGGNGGNMGNTGYTAYCC-3', onde Y = C ou T, N = A, C, G ou T, e M = A ou C; e *reverse* 1: 5'-GTDGCRAANSH5'-TNMGNGGNGGNMGNTGYTAYCC-3', onde Y = C ou T, N = A, C, G ou T, e M = A ou C. No segundo *round*, foram utilizados 2 µL do produto da primeira amplificação e os *primers forward* 2: 5'-GTNTWYGAYATHHTGYGGHATGTAYGC-3', onde W = A ou T; e *reverse* 2: 5'-CCANCCBCDRTRTGNARNGTRA-3', sob as mesmas proporções de mistura da primeira reação.

As condições do termociclagem em ambos os *rounds* foram: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 45 ciclos de 94°C por 30 segundos, 48°C por 60 segundos e 72°C por 60 segundos. Ao fim dos ciclos, a extensão final foi realizada a 72°C por 7 minutos e *hold* a 4 °C. Após os produtos foram submetidos eletroforese a 120V por 40 minutos, com gel de agarose sob concentração de 1,5% e os resultados foram visualizados em transiluminador. Ao final, nas reações positivas era esperada a formação de uma banda de aproximadamente 320 pares de bases.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, as 204 amostras testadas foram oriundas de 50 espécies distintas, pertencentes a 13 ordens de aves silvestres (Figura 1). Dentre elas, destacando-se em número algumas espécies como caturrita (*Myiopsitta monachus*) com n=42 aves, Cardeal (*Paroaria coronata*) com n=27 e canário-da-terra (*Sicalis flaveola*) com n=22. Ao todo, dentre todas as amostras testadas 70 delas foram positivas quanto a presença do adenovírus, representando uma prevalência de 34,3%.

Dentre o total de positivos (70), a maioria das detecções ocorreram na ordem dos Passeriformes com 47 animais positivos (67.1%), seguido dos Gruiformes com 6 (8.6%) e dos Strigiformes com 5 aves (7.1%). Entretanto, as maiores prevalências dentre as ordens foram dos Accipitriformes (3/3), Cariamiformes (1/1) e Pelicaniformes (2/2) com 100% dos animais positivos.

Figura 1: Relação das espécies e prevalências de positivos;

Espécies	Total/Positivos	%	Espécies	Total/Positivos	%
<i>A. flavirostris</i>	1	0%	<i>P. coronata</i>	27/15	55.5%
<i>A. cajaneus</i>	1	0%	<i>P. martinica</i>	1	0%
<i>A. guarauna</i>	1	0%	<i>P. domesticus</i>	3/2	66.6%
<i>Ardea cocoi</i>	1/1	100%	<i>P. picazuro</i>	1	0%
<i>Asio clamator</i>	1/1	100%	<i>P. brasiliensis</i>	1	0%
<i>A. cunicularia</i>	2	0%	<i>P. sulphuratus</i>	19/5	26.3%
<i>B. virginianus</i>	1	0%	<i>P. nigrorufa</i>	1/1	100%
<i>C. carduelis</i>	1/1	100%	<i>P. frontalis</i>	1	0%
<i>C. cristata</i>	1/1	100%	<i>R. dicolorus</i>	1	0%
<i>C. torquata</i>	1/1	100%	<i>R. toco</i>	1/1	100%
<i>C. flaveola</i>	1/1	100%	<i>R. magnirostris</i>	2/2	100%
<i>C. melanochloros</i>	1	0%	<i>S. multicolor</i>	1/1	100%

<i>C. talpacoti</i>	2	0%	<i>S. aurantirostris</i>	3	0%
<i>C. cucullatus</i>	1	0%	<i>Saltator similis</i>	10/5	50%
<i>C. brissonii</i>	9/2	22.2%	<i>Sicalis flaveola</i>	22/11	50%
<i>F. sparvevirus</i>	1	0%	<i>S. magellanicus</i>	3	0%
<i>Fulica armillata</i>	1/1	100%	<i>S. caerulescens</i>	6/1	16.6%
<i>Furnarius rufus</i>	1/1	100%	<i>S. collaris</i>	1	0%
<i>G. melanops</i>	2/2	100%	<i>Tangara sayaca</i>	1	0%
<i>G. chopi</i>	1	0%	<i>T. lineatum</i>	1/1	100%
<i>G. cristata</i>	1	0%	<i>T. amaurochalinus</i>	1/1	100%
<i>H. meridionalis</i>	1/1	100%	<i>Turdus rufiventris</i>	2	0%
<i>M. monachus</i>	44/3	6.8%	<i>Tyto furcata</i>	6/4	66.6%
<i>P. maculatus</i>	1/1	100%	<i>Vanellus chilensis</i>	1	0%
<i>P. sanguinolentus</i>	2/2	100%	<i>Zenaida auriculata</i>	8/1	12.5%

SILVA et al. (2021) avaliaram um total de 94 passeriformes, destes, 64 de vida livre capturados na região oeste do Rio Grande do Sul e os outros 30 exemplares de cardeal-amarelo (*Gubernatrix cristata*) de cativeiro. Ao final do estudo, foi detectado a presença do adenovírus em apenas uma amostra, advinda de um animal de cativeiro.

A diferença entre as prevalências encontradas nas diferentes regiões pode ocorrer por inúmeros fatores, como o estado de saúde geral dos animais, idade, ambiente de permanência, entre outros (HESS, 2017). Cabe ressaltar que as aves utilizadas no presente estudo estiveram temporariamente abrigadas em um centro de reabilitação com fluxo constante de animais, aumentando o risco de exposição a patógenos, levantando a possibilidade da ocorrência de contaminações recentes, no próprio ambiente de transição.

Alguns estudos desenvolvidos em aves silvestres de vida livre e aves de cativeiro, sugerem que muitos adenovírus são altamente infecciosos, e as infecções podem ser persistentes, ocasionando uma eliminação contínua ou intermitente do agente viral (OAKS et al. 2005; YANG et al. 2019; ZADRAVEC et al. 2011). Pesquisas também sugerem que alguns adenovírus possuem a capacidade de infectar uma variedade de hospedeiros, funcionando como uma estratégia evolutiva que permite a persistência do vírus em populações aviárias (BENGE et al. 2019; OAKS et al. 2005; TESKE et al. 2017; ZADRAVEC et al. 2011).

Nesse aspecto, estes vírus podem representar um perigo a conservação de espécies silvestres já ameaçadas devido a perda de *habitat* ou outros impactos antrópicos negativos. Todavia, também podem constituir um risco a avicultura comercial, pois embora a maioria dos adenovírus infectem uma única ou estreita faixa de espécies hospedeiras, os eventos de “*host switch*”, ou seja, troca de hospedeiro entre espécies silvestres e domésticas podem resultar em infecções com patogenicidade elevada (ATHUKORALA et al., 2022; KAJÁN et al. 2020).

4. CONCLUSÕES

O presente estudo identificou uma prevalência de amostras positivas de 34,3% entre as aves silvestres testadas. Esse dado constitui-se como parte fundamental para a compreensão da distribuição de doenças, dessa maneira possibilitando a tomada de medidas precoces ante a conservação de espécies e de prevenção aos impactos econômicos em unidades produtivas. Além disso, posteriormente será realizada a caracterização genética dos vírus encontrados, o que permitirá identificar algumas das principais cepas de adenovírus circulantes nas aves silvestres da região.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATHUKORALA, A. et al. Adenoviruses in Avian Hosts: Recent Discoveries Shed New Light on Adenovirus Diversity and Evolution. **Viruses**, v. 2022, p. 1767, 2022.

BENGE, S. L. et al. Identification of helodermatid adenovirus 2 in a captive central bearded dragon (*pogona vitticeps*), wild gila monsters (*heloderma suspectum*), and a death adder (*acanthophis antarcticus*). **Journal of zoo and wildlife medicine: official publication of the American Association of Zoo Veterinarians**, v. 50, n. 1, p. 238–242, 2019.

BENKO, M. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Adenoviridae* 2022. **Journal of General Virology**, v. 103, n. 3, 2022.

FITZGERALD, S. D. Adenovirus Infections. *In*: SWAYNE, D.E.; BOULIANNE, M.; LOGUE, C. M.; MCDOGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ, D. L. **Diseases of Poultry**. 14 ed. Ames: Iowa Wiley-Blackwell, p.321–322, 2020.

HESS, M. Aviadenovirus Infections. *In*: SWAYNE, D.E.; BOULIANNE, M.; LOGUE, C. M.; MCDOGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ, D. L. **Diseases of Poultry**. 14 ed. Ames: Iowa Wiley-Blackwell, p.322–332, 2020.

KAJÁN, G. L. et al. Virus–Host Coevolution with a Focus on Animal and Human DNA Viruses. **Journal of Molecular Evolution**, v. 88, n. 1, p. 41–56, 2020.

KISS, I. et al. Research Note: An overview on distribution of fowl adenoviruses. **Poultry Science**, v. 100, n. 5, 2021.

OAKS, J. L. et al. Isolation and epidemiology of falcon adenovirus. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n. 7, p. 3414–3420, jul. 2005.

SILVA, B. R. et al. Molecular diagnosis of avian viruses in grassland passerines and captive yellow cardinals *Gubernatrix cristata* in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 41, p. e06840, 2021.

TESKE, L. et al. Identification of a novel aviadenovirus, designated pigeon adenovirus 2 in domestic pigeons (*Columba livia*). **Virus research**, v. 227, p. 15–22, 2017.

WELLEHAN, J. F. X. 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.

YANG, N. et al. Psittacid Adenovirus-2 infection in the critically endangered orange-bellied parrot (*Neophema chrysogastor*): A key threatening process or an example of a host-adapted virus? **PLOS ONE**, v. 14, n. 2, p. e0208674, 2019.

ZADRAVEC, M. et al. Novel adenoviruses from captive psittacine birds in Slovenia. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 90–91, 2022.