

**ID TRABALHO:** 204/2012-0

**ÁREA DO TRABALHO:** MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA

**TÍTULO DO TRABALHO:** Caracterização Genética De Reovirus Aviário Associado A Casos De Artrite/Tenossinovite

**AUTORES:** Luizinho Caron, Daiane Voss-Rech, Marcos Antonio Zanella Mores, Paulo Augusto Esteves, Iara Maria Trevisol, Maurício Egidio Canton, Maurício Egídio Canton

**INSTITUIÇÃO:** EMBRAPA SUÍNOS E AVES

## **RESUMO:**

Os reovírus aviários (ARVs) estão entre os patógenos economicamente mais significativos na avicultura. São os agentes causadores da tenossinovite/artrite viral, que afetam principalmente frangos de corte jovens. Os prejuízos estão associados à perda total ou parcial das pernas afetadas, que podem apresentar inflamação, deformidade e/ou alteração de cor. Apesar do uso de vacinas comerciais, muitos países têm enfrentado um aumento significativo nos surtos de tenossinovite/artrite viral, relacionados às variantes emergentes, resultando em perdas econômicas substanciais. Com base nas diferentes sequências de aminoácidos &#963;C, os ARVs são agrupados em sete clusters genéticos, GC1 a GC7. Neste estudo, foi realizado o sequenciamento parcial de 9 isolados de ARV de frangos de corte com lesões sugestivas de tenossinovite, para caracterização genética. Fragmentos de tendões das áreas lesionadas foram submetidos ao isolamento viral (IV) em ovos férteis, as amostras positivas no IV foram confirmadas por PCR em tempo real. Os isolados foram armazenados na Coleção de Microrganismos de Interesse para Suinocultura e Avicultura (CMISEA) da Embrapa Suínos e Aves. Para a caracterização genética, os ácidos nucléicos foram submetidos à extração automatizada (MagMAX Express Processor, KingFisher System), utilizando o kit MagMAX - 96 Viral Isolation Kit. Para o sequenciamento, um segmento de 959 pb do gene sigma C foi amplificado por PCR com transcrição reversa (RT-PCR), seguida de Nested-PCR para amplificação de uma região de 652 pb, conforme previamente descrito. O produto da Nested-PCR foi aplicado em gel de agarose e purificado utilizando o kit PureLink Quick Gel Extraction Kit. A reação de sequenciamento foi realizada em triplicatas de cada primer, utilizando o kit BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v3.1, e purificada com o kit BidDye XTerminator Purification Kit. O sequenciamento dos fragmentos foi realizado no equipamento SeqStudio 24 Flex Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Os eletroferogramas gerados pelo sequenciamento foram analisados pelos programas phred/phrap/consed e gerado a sequência consenso para cada fragmento. O BLAST on-line foi utilizado para analisar cada sequência em relação à sua similaridade com outras sequências de ARV depositadas no GenBank, a fim de identificar o cluster mais provável ao qual pertencem. Quatro isolados apresentaram o maior escore de

similaridade com sequencias do GC2, dois com o GC1, dois com o GC5 e um com o GC6. Considerando que as vacinas comerciais disponíveis são produzidas com cepas que pertencem ao GC1, observamos que 77% (7/9) dos isolados caracterizadas neste estudo, diferem do genótipo vacinal. Os resultados corroboram com outros estudos sobre a variabilidade genética dos ARVs envolvidos nos surtos de tenossinovite/artrite viral no Brasil. Adicionalmente, considerando que lotes vacinados tendem a apresentar um perfil de genótipos diferente dos lotes não vacinados, os resultados evidenciam o desafio enfrentado pela a avicultura comercial para o controle desta enfermidade e suas perdas econômicas.