

ID TRABALHO: 204/2000-0

ÁREA DO TRABALHO: MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA

TÍTULO DO TRABALHO: Avaliação De Pcr Em Tempo Real Para Detecção Universal De 5 Espécies De Adenovirus Aviário

AUTORES: Daiane Voss-Rech, Paulo Augusto Esteves, Iaramaria Trevisol, Luizinho Caron

INSTITUIÇÃO: EMBRAPA SUÍNOS E AVES

RESUMO:

Os adenovírus aviários estão presentes em todos os sistemas de produção avícola. Estão envolvidos na redução da produtividade, frequentemente agravando a patogenia de outros agentes infecciosos. São responsáveis por quadros clínicos emergentes como a hepatite por corpúsculos de inclusão, as síndromes da erosão da moela e do hidropericárdio. O gênero é dividido em 28 espécies, das quais cinco são importantes para avicultura de corte (anteriormente denominadas adenovírus tipo 1): *A. gallinae*, *A. hepatitidis*, *A. hydroperycardii*, *A. quintum* e *A. ventriculi*. Há diferentes métodos para monitorar e diagnosticar os adenovírus, sendo os moleculares mais utilizados. Dentre estes, a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) permite o diagnóstico rápido e sensível com quantificação do genoma alvo. A qPCR com uso de sonda de hidrólise é mais específica e de interpretação mais fácil, quando comparada ao sistema de intercalante de DNA. Apenas um ensaio de qPCR, usando intercalante de DNA, capaz de detectar as 5 espécies de adenovírus aviário foi desenvolvido e validado em 2012, porém, é de difícil interpretação devido a presença de dímeros de primers, demandando uma etapa adicional de verificação em gel de agarose. Em 2021 uma adaptação desta qPCR, com os mesmos primers foi publicada, utilizando o sistema de sonda de hidrólise, mas a validação do ensaio não foi apresentada. Os resultados obtidos ao tentarmos validar a qPCR com sonda de hidrólise confirmaram a complementariedade dos primers e sonda com as 5 espécies de adenovírus in sílico. A reação foi otimizada utilizando kit comercial (GoTaq probe qPCR Master Mix, Promega), pela avaliação de diferentes concentrações de primer e sonda, bem como diferentes temperaturas de hibridização. Para determinar a especificidade da reação, cepas de oito vírus aviários heterólogos foram avaliados. A eficiência da reação foi determinada pelo teste de oito diluições decimais seriadas de uma cepa de Aviadenovirus sp., em duplicata. Os melhores resultados foram obtidos com 200µM de sonda e 300µM de cada primer, à 60°C. A especificidade apresentou resultado satisfatório, sem amplificação de vírus heterólogos. Entretanto, a eficiência foi de apenas 61,637%, R² de 0,996 e slope de 4,795, bastante inferior a eficiência aceitável para este teste (90% a 110%). A baixa eficiência resulta uma baixa sensibilidade da qPCR. Observamos que a temperatura de melting (T_m) da sonda de hidrólise é próxima a temperatura dos primers. A



CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA
25 A 28 DE OUTUBRO DE 2025
ARACAJU | SERGIPE



SUSTAINABILITY
& FOOD SAFETY
Aracaju - SE - Brazil
October 25th to 28th

recomendação é que a T_m da sonda esteja 5 a 10° C acima da T_m dos primers, o que pode explicar a baixa eficiência encontrada. A partir desse trabalho e considerando não termos identificado na literatura outro ensaio com a mesma finalidade, nossa equipe deu início ao desenvolvimento e validação de uma qPCR com sonda de hidrólise para detecção universal das cinco espécies de adenovírus aviário (*A. gallinae*, *A. hepatitidis*, *A. hydroperycardii*, *A. quintum* e *A. ventriculi*).