

## DETECÇÃO MOLECULAR DE GYROVÍRUS AVIÁRIO TIPO 2 (AGV-2) EM AVES SPF ALOJADAS EM CAMAS COMERCIAIS E EM CASCUDINHOS PRESENTES NA CAMA

Costa, C. 1\*; Klein, T. E. 2; Silva, A. D. 3; Ritterbusch, G. A. 4; Okino, C. H. 5; Trevisol, I. M. 6; Silva, V. 6; Brentano, L. 6; Esteves P. A 6

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade do Contestado, Campus Concórdia, SC, Estagiária da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CNPq/PIBIC. E mail: [channaizsa@hotmail.com](mailto:channaizsa@hotmail.com);

<sup>2</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade do Contestado, Concórdia, SC, bolsista Embrapa;

<sup>3</sup>Pós-Doutorado Empresarial, CNPq;

<sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Veterinária UFPel;

<sup>5</sup>Analista da Embrapa Suínos e Aves.;

<sup>6</sup>Pesquisadores da Embrapa Suínos e Aves

**Palavras-chaves:** AGV-2; PCR; aves SPF; cama de aviário, *Alphitobius diaperinus*

### Introdução

O Gyrovírus aviário tipo 2 (AGV-2) foi recentemente identificado e sugerido pertencer a família *Circoviridae*, gênero *Gyrovirus* juntamente com o vírus da anemia infecciosa das galinhas (CAV) (1; 2). Possui genoma circular de 2,3 ou 2,4 Kb e apresenta baixa homologia com CAV, um circovírus de ampla distribuição em galinhas que causa grande impacto econômico em avicultura (3). A cama de aviário é reconhecida como um favorável ambiente para detecção de uma grande variedade de patógenos, sendo, a reutilização de cama por consecutivos lotes de aves, uma prática comum na indústria avícola do Brasil. Tal procedimento requer o tratamento por fermentação da cama entre os lotes visando a redução da presença de patógenos (4; 5). O objetivo do presente trabalho foi investigar a presença de AGV-2 em aves alojadas em cama de aviário tratada, bem como em *Alphitobius diaperinus* (cascudinho), inseto presente em grandes quantidades na cama, que poderia ser um vetor de determinados agentes microbianos às aves.

### Materiais e Métodos

Um total de 132 aves SPF (*Specific Pathogen Free*) foi utilizado no presente experimento. Todas as aves foram testadas para a presença de DNA do AGV-2 e separadas em dois grupos com 106 (G1) e 26 (G2) aves. As aves do G1 foram mantidas em oito isoladores com ar filtrado e pressão positiva, enquanto as aves do G2 foram alojadas em uma instalação experimental em contato com a cama de frango reutilizada e tratada (fermentação). Nos dias 20 e 35 após o alojamento (DA), penas de 43 aves (G1) e 11 aves (G2) foram coletadas. No dia 35 DA todas as aves foram sacrificadas e o fígado de cada ave foi coletado para detecção de AGV-2 por PCR. Exemplos do inseto *Alphitobius diaperinus* foram coletados, pesados e lavados em solução de PBS na proporção 1:5. Após, este material foi agitado por 3 minutos e colhido o sobrenadante. Este processo foi realizado durante 10 vezes, sendo todos os sobrenadantes armazenados a 4°C. Foi realizada extração de DNA da primeira e última lavagem, a fim de verificar uma possível presença do AGV-2 externamente a estes insetos. Em seguida, os cascudinhos foram expostos à luz ultravioleta por 30 minutos e submetidos à maceração em areia estéril. Tal material foi congelado e descongelado duas vezes a -70°C. Após, os macerados foram centrifugados a 2000 x g por 10 minutos e o sobrenadante colhido, tratado com

soluções de antibióticos e antifúngicos e mantidos a 4°C por 1 hora. Este procedimento foi realizado com o objetivo de verificar a possível presença de AGV-2 no interior do inseto. A PCR para detecção de AGV-2 foi realizada como descrito anteriormente (2), utilizando iniciadores que amplificam um fragmento de 345 pares de base. Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1 %, corado com brometo de etídio (10 mg/mL) e visualizado sob luz ultravioleta.

### Resultados e Discussão

No G1, 106/106 aves analisadas no 8º DA, 43/106 aves analisadas no 20º DA, bem como as aves restantes até o 35º DA (2/2) foram livres para o DNA do AGV-2 nas penas. No G2, 1/11 apresentou resultado positivo nas penas no 20º DA, enquanto, que no 35º DA 26/26 aves testadas foram positivas para o DNA de AGV-2 no fígado. Com relação à cama de aviário, os resultados obtidos demonstraram positividade para a presença do DNA de AGV-2 em 2/3 coletas realizadas. Entretanto, resultados obtidos dos lavados dos cascudinhos, para análise de vírus externamente, apresentaram reação positiva em 2/3 coletas realizadas da primeira lavagem. Já na 10º lavagem observou-se resultado negativo em todas as coletas testadas por PCR. Os resultados obtidos com a maceração dos cascudinhos, para análise de DNA internamente, todas as amostras foram negativas.

### Conclusão

No presente trabalho descrevemos a infecção de aves SPF alojadas em cama de aviário tratadas por fermentação, sugerindo que o AGV-2 é uma partícula completa, ativa e infecciosa sendo resistente ao tratamento por fermentação aplicado anteriormente ao alojamento das aves. Verificamos que os cascudinhos podem carrear o vírus externamente, porém, a presença de AGV-2 dentro destes insetos, não foi detectada.

### Referências

1. Rijsewijk, F.A.M. et al. (2011). Archives of Virology 156, 1097-1100.
2. Santos, H.F. et al. (2012). Veterinary Microbiology 155, 230-236.
3. Schat & Van Santen, 2008
4. Silva, V.S. et al. (2007) Comunicado Técnico 467, Embrapa Suínos e Aves.
5. Silva, V.S. et al. (2011), CD-Room, Facta, Santos, SP.