

DOENÇA DE MAREK EM AVES ADULTAS COM SINAIS CLÍNICOS OCULARES – RELATO DE CASO

LEONARDO CLASEN RIBEIRO¹; FRANCIELLE LIZ MONTEIRO²; AMANDA DE
OLIVEIRA BARBOSA²; NADÁLIN YANDRA BOTTON²; RENATA NOBRE DA
FONSECA²; GILBERTO D'ÁVILA VARGAS³

¹Universidade Federal de Pelotas – leonardo.clasen@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – franciellemonteiro09@gmail.com,
barbosa.oamanda@gmail.com, nadalinyb@gmail.com, renatanobredafonseca@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – gdavilavargas@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A doença de Marek é uma enfermidade linfoproliferativa, causada pelo vírus MDV (*Gallid alphaherpesvirus 2*, GaHV-2) pertencente à família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Mardivirus*. Dentro deste gênero, ainda se enquadram outras duas espécies virais relacionadas a doença: *Gallid alphaherpesvirus 3* (GaHV-3) e *Meleagrid alphaherpesvirus 1* (MeHV-1), antigamente denominadas de sorotipo 2 e 3, respectivamente (GIMENO et al., 2016; ICTV, 2018). Somente o MDV está relacionado ao surgimento de tumores em aves susceptíveis, sendo as outras duas espécies consideradas apatogênicas, e utilizadas após atenuação na fabricação de vacinas frente ao MDV (NAIR, 2018). Sinais clínicos neurológicos, motores, oculares, lesões de pele e imunossupressão podem ser encontrados em animais afetados, principalmente em aves jovens (CALNEK, 2001). A suspeita clínica da doença de Marek ocorre a partir de um conjunto de sintomas, idade dos animais, fatores ambientais e manejo sanitário (SAILEN et al. 2017).

A vacinação dos planteis é a forma principal no controle da enfermidade, sendo utilizado vírus vivos atenuados em sua produção. Porém, a utilização de melhoramento genético para obtenção de aves mais resistentes ao vírus e a melhora dos cuidados de biossegurança têm sido cada vez mais importantes no controle da doença (NAIR, 2018), devido principalmente ao aumento da virulência das cepas virais com o passar dos anos e a incapacidade das vacinas de impedir a infecção e transmissão do vírus (ZHANG et al., 2015).

Em produções de fundo de quintal, onde os animais têm a finalidade de *pets* ou produção de subsistência, as aves geralmente possuem poucos cuidados com biossegurança e diversas falhas nas estratégias de vacinação, sendo um ambiente propício para o surgimento de diversas enfermidades (DIMITROV et al., 2016). Assim, o objetivo do presente estudo é relatar a ocorrência de um caso de Marek em aves adultas, que apresentaram anisocoria e cegueira.

2. METODOLOGIA

Foram recebidas no Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária (LRD) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) duas carcaças de aves provenientes de propriedade localizada no município de Pelotas (RS), acompanhadas de amostras de sangue colhidas de ambos os animais no *ante-mortem*, em tubos com anticoagulante. A idade dos animais era de, aproximadamente, dois anos de idade, esses eram criados em fundo de quintal, sem vacinação e apresentavam perda de peso, anisocoria e cegueira, sendo a doença de Marek o diagnóstico presuntivo de acordo com a sintomatologia relatada, apesar da idade avançada dos animais.

Através da necropsia das aves, foram coletadas amostras de órgãos como fígado, coração, intestinos, pulmão e baço, além do nervo ciático, sendo fixadas em formalina tamponada a 10%, processadas rotineiramente para histologia e coradas com hematoxilina e eosina (H&E). No exame histopatológico, foram observados infiltrados de linfócitos em diversos tecidos, como olhos, pulmão e coração. Para fins de diagnóstico molecular, foram coletadas amostras de fígado, nervo ciático, baço e bulbo de penas, sendo armazenadas a 4°C em *pools* de ambas as aves por órgão, no Laboratório de Imunologia e Virologia da UFPel (LabVir) até o processamento.

O DNA foi extraído utilizando o reagente DNAzol™ (Thermo Fisher Scientific) para as amostras de tecido, e o *kit* DNA Mini Spin (KASVI) para a amostra de sangue. Ambos de acordo com as recomendações do fabricante. O DNA extraído foi submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR) conforme descrito por Sadeghi et al. (2006) com modificações, tendo como alvo o gene da glicoproteína A (gA). Foram utilizados dois pares de primers distintos na PCR, com o intuito de diferenciar as diferentes espécies virais, sendo o primer MDV-gA-1 capaz de amplificar os vírus GaHV-2 e GaHV-3 e o primer HVT-gA-3, o vírus MeHV-1, conforme descrito na Tabela 1.

O volume final utilizado para a PCR foi de 25 µL, contendo 100-200 ng de DNA, 1x GoTaq® Master Mix Colorless (Promega) e 0,4 µM de cada primer. As condições da PCR foram: 94 °C por 5 min, 35 ciclos de 94, 50 e 72 °C por 30 segundos, e 72 °C por 10 minutos. Posteriormente, utilizando o corante Blue Green (LGC Biotecnologia) foi realizada a eletroforese em um gel de agarose 2% (100V, 40min).

Tabela 1. Primers utilizados na reação em cadeia da polimerase (PCR)

Primer	Sequência	Amplícon (pb)
MDV-gA-1F	5' CATGCAAGTCATTATGCGTGAC 3'	200
MDV-gA-1R	5' TGTTTCCATTCTGTCTCCAAGA 3'	
HVT-gA-3F	5' CGCGTACTGCGCCTGACG 3'	388
HVT-gA-3R	5' CAACTTCGCTCTTGACG 3'	

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras analisadas na PCR utilizando o primer MDV-gA-1, o sangue de ambas as aves, bem como os *pools* de fígado e bulbo das penas tiveram resultado positivo, tendo como resultado *amplicons* de 200bp. Com o primer HVT-gA-3, nenhuma amostra apresentou produto de amplificação na eletroforese, caracterizando-se todas como negativas. Detectou-se, portanto, a presença de DNA viral nas amostras de sangue, fígado e bulbo das penas dos animais, confirmando, junto com os achados anatomopatológicos, a suspeita clínica para doença de Marek.

Hirschmann et al. (2019) verificou que, dentre todas as doenças virais acometidas por aves nos municípios da região sul do Rio Grande do Sul atendidas no LRD da UFPel, a de maior frequência era a doença de Marek (42,6% dos casos), demonstrando uma grande incidência de casos na região. Mete et al. (2013) também demonstrou que a enfermidade era uma das maiores causas de mortalidade de origem viral em aves de fundo de quintal. Este histórico da enfermidade sustentou a hipótese da suspeita clínica de Marek no presente estudo, contribuindo com o diagnóstico.

Alguns autores já demonstraram a associação da doença de Marek com o aparecimento de tumores em diversos órgãos (METE et al., 2013; ABREU et al.,

2016), o que não foi observado nos animais deste estudo, onde as aves apresentaram somente sintomatologia ocular, com cegueira total em uma ave e parcial na outra, o que pode ter levado ao baixo peso dos animais devido à perda ou diminuição da capacidade de encontrar alimento. Mete et al. (2013) ainda demonstrou o baixo índice de sinais oculares dentre os casos positivos estudados (1/26). Outro fator atípico são a idade dos animais, de aproximadamente dois anos, sendo a enfermidade tipicamente conhecida por afetar aves jovens (VAUGHT et al., 2019).

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que a doença de Marek pode estar presente em criações de fundo de quintal, apresentando sintomatologia não convencional a doença, como cegueira, mesmo em aves adultas, criando um potencial disseminador do vírus a avicultura industrial.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, D. L. C. et al. Pathological aspects of a subclinical marek's disease case in free-range chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 18, n. 1, p. 197-200, 2016.

CALNEK, B. W. Pathogenesis of Marek's disease virus infection. In: **Marek's Disease**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2001. p. 25-55.

ICTV. **Virus taxonomy: 2018 release**. Acessado em 19 set 2019. Online. Disponível em: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses-2011/w/dsdna_viruses/74/poxviridae.

DIMITROV, K. M. et al. Repeated isolation of virulent Newcastle disease viruses of sub-genotype VIIId from backyard chickens in Bulgaria and Ukraine between 2002 and 2013. **Archives of virology**, v. 161, n. 12, p. 3345-3353, 2016.

GIMENO, I. M. et al. Efficacy of various HVT vaccines (conventional and recombinant) against Marek's disease in broiler chickens: effect of dose and age of vaccination. **Avian diseases**, v. 60, n. 3, p. 662-668, 2016.

HIRSCHMANN, L. C. et al. Fatores de risco associados com a presença de infecções virais em aves domésticas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, 2019.

METE, A. et al. Causes of mortality in backyard chickens in northern California: 2007–2011. **Avian diseases**, v. 57, n. 2, p. 311-315, 2013.

NAIR, V. Spotlight on avian pathology: Marek's disease. **Avian pathology**, v. 47, n. 5, p. 440-442, 2018.

SADEGHI, M. R. et al. Polymerase chain reaction for the detection and differentiation of Marek's disease virus strains MDV-1 and HVT. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 7, n. 1, p. 17-21, 2006.

SAILEN, A. M. et al. Trends in diagnosis of Marek´ S disease (MD) in poultry at Central Veterinary Laboratory in Dar es Salaam, Tanzania. **Tanzania Veterinary Journal**, v. 35, n. Special Issue, p. 54-57, 2017.

VAUGHT, M. E. et al. Reasons for evaluation on an emergency basis of and short-term outcomes for chickens from backyard flocks: 78 cases (2014–2017). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 254, n. 10, p. 1196-1203, 2019.

ZHANG, Y. P. et al. Pathogenic characteristics of Marek's disease virus field strains prevalent in China and the effectiveness of existing vaccines against them. **Veterinary microbiology**, v. 177, n. 1-2, p. 62-68, 2015.