

DETECÇÃO MOLECULAR DE ADENOVÍRUS EM PASSERIFORMES NO RIO GRANDE DO SUL

RAPHAEL BITENCOURT FERNANDES SILVA¹; GABRIEL DA SILVA ZANI²;
CARLOS ALEXIS GUARDADO MARTINEZ³; RAQUELI TERESINHA FRANCA
⁴; MARCELO DE LIMA⁵; GILBERTO D'ÁVILA VARGAS⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – raphaelb130903@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – gzani27@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – carlosair1027@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – raquelifranca@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – mdelima.ufpel@gmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – gdavilavargas@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

O Adenovírus (AdV) pertence à família *Adenoviridae* (ICTV, 2025). Com estrutura caracterizada por capsídeo icosaédrico com ausência de envelope e genoma em forma de DNA fita dupla e linear, com comprimento de 25 a 48 kb. Seu processo de replicação ocorre no núcleo da célula hospedeira, sendo liberado através de lise celular. A transmissão deste vírus ocorre tanto por forma direta, quanto indireta, desde via fecal-oral, até respiratória, sendo secretado nas excreções de animais infectados (HESS, 2000).

A lista de hospedeiros afetados pelos Adenovirus é contemplada por seres humanos até animais domésticos e silvestres, incluindo aves. O gênero responsável pelo acometimento de aves são os *Siadenovirus*, *Atadenovirus* e *Aviadenovirus* (HARRACH *et al.*, 2022). Sua patogenia é geralmente branda, tendo como principal manifestação clínica os sinais respiratórios leves. Quanto às aves infectadas, também são relatados edemas pulmonares, lesões esplênicas, distúrbios do trato gastrointestinal, hepatites e síndrome da queda de postura em aves de produção. A taxa de mortalidade é variada e depende do gênero infectante, assim como o nível de imunossupressão do hospedeiro (FLORES, 2007).

A ordem Passeriformes, que reúne as aves conhecidas popularmente como “pássaros cantores”, apresenta ampla diversidade no Rio Grande do Sul, sendo representada por espécies comuns, como o sabiá-laranjeira (*Turdus rufiventris*), até espécies ameaçadas e de ocorrência restrita, como o veste-amarela (*Xanthopsar flavus*). Essa riqueza está associada à variedade de ambientes do estado, que inclui florestas, campos sulinos, áreas úmidas e zonas urbanas, possibilitando a presença de diferentes famílias como *Turdidae*, *Furnariidae*, *Thraupidae* e *Tyrannidae*. Além de sua importância ecológica, muitas dessas espécies possuem valor cultural e indicam a qualidade ambiental dos ecossistemas onde ocorrem (BENCKE, 2001).

O relato da presença de Adenovírus em aves de vida livre na natureza é de extrema importância para a medicina veterinária, vista a ameaça de populações silvestres como possíveis patógenos, além da preocupação quanto a perdas que o risco da infecção pelo Adenovírus pode causar na indústria de produção de aves (MCFERRAN, 2000). Existem poucos trabalhos que buscam a detecção de adenovirus em Passeriformes no Brasil, e no estado do Rio Grande dos Sul esse é o segundo relato da presença desse vírus nessa ordem de aves.

No presente estudo, foi realizada a detecção molecular por meio do processo de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*)

a partir de amostras retiradas de um total de 115 aves silvestres de 23 diferentes espécies de passeriformes.

2. METODOLOGIA

Para a realização do estudo, 115 passeriformes silvestres tiveram amostras de swab cloacal coletadas no Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre (NURFS-UFPel). Ao longo de cerca de um ano, os materiais coletados foram refrigerados e encaminhados para processamento no Laboratório de Virologia e Imunologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LabVir UFPel), onde foram mantidos congelados sob a temperatura de -80°C em ultrafreezer.

No primeiro momento, a detecção da presença viral foi realizada a partir da extração do material genético das amostras, empregando-se o kit ID Vet Diagnostics™ (USA), de acordo com as instruções do fabricante. O material obtido foi submetido à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando-se a estratégia de pan-adeno nested-PCR.

Na etapa inicial de amplificação, a reação foi conduzida em um volume total de 25 µL, constituído por 12,5 µL de GoTaq® Colorless Master Mix, 5,5 µL de água ultrapura, 2 µL de amostra purificada e 2,5 µL de cada um dos primers 5'-TNMGNNGNGNMGNTGYTAYCC-3' (Forward 1) e 5'-GTDGCRAANSH5'-TNMGNNGNGNMGNTGYTAYCC-3' (Reverse 1). A mistura reacional foi submetida ao termociclador, seguindo as condições estabelecidas na Tabela 1.

Para a segunda rodada de amplificação, manteve-se a mesma composição da mistura utilizada na primeira reação, acrescida de 2 µL do produto obtido na etapa inicial, bem como dos primers 5'-GTNTWYGAYATHTGYGGHATGTAYGC-3' (Forward 2) e 5'-CCANCCBCDRTTRTGNARNGTRA-3' (Reverse 2). A reação subsequente foi conduzida em termociclador sob as mesmas condições previamente descritas.

Os produtos amplificados foram então submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, conduzida a 120 V por 40 minutos. Posteriormente, o gel foi corado com Brometo de Etídio e analisado em transiluminador sob luz ultravioleta. Para as amostras positivas, era esperado o aparecimento de um amplicon de aproximadamente 320 pares de base (WELLEHAN et al., 2004).

Tabela 1. Condições de termociclagem (primeira e segunda polimerização).

Etapas	1	2	3	4	5	6
Temperatura	94°C	94°C	48°C	72°C	72°C	4°C
Tempo	5 min	30 seg	30 seg	1min	7 min	∞
Repetição	1x		45x		1x	-

1 – Desnaturação inicial; 2 – Desnaturação; 3 – Anelamento; 4 – Extensão; 5 – Extensão final; 6 – Hold.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as amostras processadas, um total de 47 foram identificadas como positivas, representando 40,87% do total de amostras apresentadas. A respeito das espécies que se destacam com maior número de positivos, foram observadas 15 amostras positivas na espécie *Paroaria coronata*, 11 amostras da espécie *Sicalis flaveola*, 5 amostras das espécies *Pitangus sulphuratus* e *Saltator similis*, respectivamente, além de outros 11 casos positivos distribuídos entre demais espécies de passeriformes, como demonstrado na tabela 2.

Embora a maioria dos adenovírus infecte espécies ou grupos específicos de animais, há a possibilidade de eventos de "host switch", onde ocorre troca de hospedeiros entre espécies selvagens e domésticas, resultando em surtos de doenças de significativa patogenia. Atendendo isso, esses vírus representam potencial ameaça à preservação de espécies selvagens, já em perigo devido à perda de habitat e outros impactos da ação humana, além da indústria avícola (KAJÁN *et al.*, 2020).

A grande maioria dos trabalhos de detecção com adenovírus no país foram realizadas em aves de produção (METTIFOGO *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2014; DE LA TORRE *et al.*, 2018). Alguns trabalhos tiveram como enfoque as populações de aves silvestres como columbiformes (CATROXO *et al.* 2011), cracídeos (MARQUES *et al.* 2019) e psitacídeos (DUARTE *et al.*, 2019). Já no estado do Rio Grande do Sul, SILVA *et al.* (2021) pesquisaram alguns vírus aviários em passeriformes de vida livre e detectaram a presença de adenovírus em cardeal-amarelo (*Gubernatrix cristata*) via PCR/nested PCR.

Embora muitas infecções subclínicas passem desapercebidas, certos sorotipos podem levar a surtos severos com potenciais perdas econômicas (SWAYNE *et al.*, 2019).

Tabela 2. Descrição do diagnóstico de amostras ao Adenovírus.

Espécie	Nº de amostras	Nº de positivos
<i>Sicalis flaveola</i>	22	11
<i>Cardelius cardelius</i>	1	1
<i>Coereba flaveola</i>	1	1
<i>Coryphungus spiculatus</i>	1	0
<i>Cyanoloxia brisonii</i>	9	2
<i>Furnarius figulus</i>	1	1
<i>Gmorim chopi</i>	1	0
<i>Gubernatrix cristata</i>	1	0
<i>Paroaria coronata</i>	27	15
<i>Parphagio martinica</i>	1	0
<i>Passer domesticus</i>	3	2
<i>Pintagol</i>	1	0
<i>Pitangus sulphuratus</i>	19	5
<i>Poospiza nigrorufa</i>	1	1
<i>Saltaricula multicolor</i>	1	1
<i>Saltator aurantiirostris</i>	3	0
<i>Saltator similis</i>	10	5
<i>Sporophila caerulescens</i>	6	1
<i>Spinus magellanicus</i>	2	0
<i>Sporophila collaris</i>	1	0
<i>Tangara sayaca</i>	1	0
<i>Turdus</i>	1	0
<i>Turdus amaurochalinus</i>	1	1

4. CONCLUSÕES

Dessa forma, através do uso de técnica de detecção molecular, o trabalho identificou a presença de Adenovírus em passeriformes de vida livre, atingindo o propósito ao elucidar a importância que esses animais representam à saúde pública e à economia avícola industrial, levantando a possibilidade de infecções.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENCKE, G. A. **Lista de referência das aves do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 2001.
- CATROXO, M. H. B. et al. Research of Viral Agent in Free-living Pigeon Feces (*Columba livia*) in the City of São Paulo, SP, Brazil, for Transmission Electron Microscopy. *International Journal of Morphology*, v. 29, n. 2, p. 628-635, jun. 2011.
- DE LA TORRE, D., NUÑEZ, L.F.N., SANTANDER PARRA, S.H. et al. Molecular characterization of fowl adenovirus group I in commercial broiler chickens in Brazil. *Virus Diseases*. 29, p. 83–88, 2018.
- DUARTE, M. A. et al. Faecal Virome Analysis of Wild Animals from Brazil. *Viruses*, v. 11, n. 9, p. 803, 30 ago. 2019.
- FLORES, E.F., Virologia Veterinária. In: MORAES, M.P., da COSTA, P.R. **Adenoviridae**. Santa Maria: UFSM, 2007. Cap. 16, p. 413-432.
- HARRACH, B., WATANABE, H., WADELL, G, et al., ICTV Virus Taxonomy Profile: Adenoviridae 2022. *Journal of General Virology*, v. 103, n. 3, p. 001712, 2022.
- HESS, M., Detection and differentiation of avian adenoviruses: A review. *Avian Pathology*, v. 29, n. 3, p. 195-206, 2000.
- ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses**. Acessado em 10 de agosto de 2025. Online. Disponível em: <<https://ictv.global/report/chapter/adenoviridae/adenoviridae>>.
- KAJÁN, G.L., DOSZPOLY, A., TARJÁN, Z.L., VIDOVSZKY, M.Z., et al. Virus–host coevolution with a focus on animal and human DNA viruses. *Journal of molecular evolution*, v. 88, p. 41-56, 2020.
- MARQUES MVR, MARIN SY, COUTO RM, ECCO R, RESENDE M, MARTINS NRDS. Fatal necrotic tracheitis by *Aviadenovirus* in captive Alagoas curassows (*Pauxi mitu*) extinct from the wild. *Avian Pathol.* 2019 Jun;48(3):278-283.
- METTIFOGO, E. et al. Fowl adenovirus Group I as a causal agent of inclusion body hepatitis/hydropericardium syndrome (IBH/HPS) outbreak in brazilian broiler flocks. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol.34, n.8, p.733-737. 2014.
- MCFERRAN, J.B., SMYTH, J.A. Avian Adenoviruses. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, v. 19, n. 2, p. 589-601, 2000.