Isabela Santos Silva

Detecção de *Chelonid alphaherpesvirus-5* (ChHV5) em sangue e órgãos de *Chelonia mydas* (Testudines, Cheloniidae) e correlação com aspectos morfométricos em animais com e sem fibropapilomatose da costa de Ubatuba/São Paulo

ABSTRACT

Fibropapillomatosis (PF) is a neoplastic disease with epithelial origin characterized by skin tumors, and has been reported to affect all species of sea turtles. Green sea turtles (*Chelonia mydas*) are the most commonly and severely afflicted with fibropapillomatosis. The pathogenesis of the disease is not fully elucidated yet, however is a consensus in the literature that it has a multifactorial character. Chelonid alphaherpesvirus-5 (ChHV5) is indicated as an etiological agent of PF, since several molecular studies have shown the detection of this virus in samples from cutaneous neoformations. How spread and dissemination of ChHV 5 occurrence in animals is not one that is fully understood. The present study aim to detect ChHV5 in samples of *Chelonia mydas* affected and not affected by PF, from the feeding area of Ubatuba-SP and surroundings. ChHV5 detection as well as molecular characterization of the agent were done through polymerase chain reaction (PCR) and sequencing techniques. Samples were collected from 70 live animals - blood (n = 70), skin (n = 20) and tumor (n = 9) and 33 of necropsied animals: liver (n = 33), spleen (n = 32), gonads (n = 32), lungs (n = 6) and skin (= 6). The prevalence of ChHV5 was 80% (16/20) in live animals - : skin, blood and tumor (when present) and 100% (33/33) of the necropsied animals. Virus was detected in all types of tissues evaluated, and in turtles affected and not affected by PF. Considering the severity of PF was not possible to relate a direct response between that and the body condition of evaluated animals. Animals affected with severe SPF had the viral agent detected in all organs and tissues evaluated, characterizing this type of event as virus spreaders. Detection of ChHV5 in internal organs indicates local possibilities of viral persistence, specifically in gonads of animal without tumors which suggests the hypothesis of a sexual or vertical transmission of ChHV5, as it happens with other alphaherpesviruses. The quality of the water in Ubatuba beaches - where samples were collected - was analyzed and showed that some areas are more affected than others considering pollution levels. However, it is not possible set the difference between some of the parameters analyzed and the disease occurrence. ChHV5 DNA polymerase sequences from blood and tumor samples identified in this study had 100% identity with sequences from Ubatuba / SP. Thus, the same haplotype of the viral agent appears to be able to infect different host tissues.

Moreover, the sequence obtained from an ovary sample in this study was compatible with a sequence found in Fernando de Noronha / PE. Thus, animals found on the North Coast of São Paulo may be infected by more than one viral haplotype and appear to be able to carry the virus between distant regions. Results of this study allow to formulate hypotheses that can contribute to the understanding of problems related to the disease pathogenesis and help in the monitoring of the viral agent, thus contributing to the control of sea turtles.

Keywords: Tumors. Pathogeny. Sea turtles. Conservation.

RESUMO

A fibropapilomatose (FP) é uma neoplasia de origem epitelial caracterizada por tumores cutâneos. Foi reportada afetando todas as espécies de tartarugas-marinhas. As tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) são a espécie mais comum e gravemente afetada. A patogênese da doença ainda não está completamente elucidada, mas há um consenso na literatura de que a FP apresenta caráter multifatorial. O Chelonid alphaherpesvirus-5 (ChHV5) é apontado como agente etiológico da FP, uma vez que diversos estudos moleculares demonstraram a detecção deste vírus em amostras oriundas de neoformações cutâneas. Aspectos relativos à infecção e disseminação do ChHV5 no organismo do hospedeiro não estão totalmente esclarecidos. Considerando o exposto, o presente trabalho teve como objetivo a detecção de ChHV5 em amostras de *Chelonia mydas* acometidas e não acometidas pela FP, provenientes da área de alimentação de Ubatuba-SP e arredores. Buscou-se a detecção de ChHV5, bem como a caracterização molecular deste agente através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento. Foram avaliadas amostras de sangue (n=70), pele (n=20) e tumor (n=9) de 70 animais vivos e amostras de fígado (n=33), baço (n=32), gônadas (n=32), pulmões (n=6) e pele (n=6) de 33 animais necropsiados. A prevalência de ChHV5 foi de 80% (16/20) nos animais vivos, sendo as amostras provenientes de diferentes órgãos tecidos: pele, sangue e tumor (quando presente) e 100% (33/33) dos animais necropsiados. O vírus foi detectado em todos os tipos de órgãos e tecidos avaliados, e em tartarugas acometidas e não acometidas pela FP. Não foi possível encontrar uma relação direta entre o grau de severidade da FP (FPS) e a condição corporal dos animais avaliados. Os animais com FPS severo tiveram o agente viral detectado em todos os órgãos e tecidos avaliados, caracterizando tais indivíduos como potenciais dispersores do vírus. A detecção do ChHV5 em órgãos internos, indica possíveis locais de persistência viral. Especificamente em gônadas de animais sem tumores, levanta a hipótese da possibilidade de transmissão sexual ou vertical do ChHV5, assim como ocorre com outros alphaherpesvirus. A análise da qualidade da água de praias

de Ubatuba, onde foram coletados animais com ou sem sinais clínicos da FP, portadores do ChHV5 demonstrou que algumas regiões estão mais poluídas que outras. Porém, não possível encontrar uma relação clara entre alguns dos parâmetros analisados e a doença. As sequências de DNA polimerase de ChHV5 de amostras de sangue e tumor identificadas neste estudo tiveram 100% de identidade com sequências provenientes de Ubatuba/SP. Logo, um mesmo haplótipo do agente viral parece ser capaz de infectar diferentes tecidos do hospedeiro. Ademais, a sequência obtida de uma amostra de ovário neste estudo foi compatível com uma sequência encontrada em Fernando de Noronha/PE. Assim, os animais encontrados no Litoral Norte de São Paulo podem estar infectados por mais de um haplótipo viral e parecem capazes de transportar o vírus entre regiões distantes. As análises deste estudo permitiram a formulação de hipóteses que podem contribuir para a compreensão de aspectos relacionados à patogênese da doença e auxiliam no monitoramento do agente viral, podendo assim contribuir para os esforços na conservação das tartarugas-marinhas.

Palavras-chave: Tumores. Patogenia. Tartarugas-marinhas. Conservação.