

NATHALIA UTECHT SOARES

**ECO-EPIDEMIOLOGIA DOS AVULAVIRUS EM AVES  
SILVESTRES DE DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Edison Luiz Durigon

Versão Original

SÃO PAULO  
2019

## RESUMO

SOARES, N.U. **Eco-Epidemiologia dos *Avulavirinae* em aves silvestres de diferentes regiões do Brasil**. 2019. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Os *Avulavirinae*, que pertencem à família *Paramyxoviridae*, possuem vinte espécies virais descritas que podem ser encontradas no mundo todo e infectam aves silvestres e comerciais. O *orthoavulavirus* aviário 1, vírus da doença de Newcastle, avulavirus aviário 1 ou paramyxovirus aviário 1 (APMV-1) um dos maiores causadores de perdas econômicas para a avicultura mundial, devido à sua mortalidade. Em 2017, o Brasil foi o segundo maior exportador de carne de frango do mundo, movimentando mais de 7 milhões de dólares. Esses vírus foram encontrados em sua maioria em aves que praticam algum tipo de movimento considerado migratório, e assim se disseminam pelo mundo. Nos últimos dez anos, dez novas espécies desta subfamília foram caracterizadas. O presente trabalho objetivou verificar as espécies circulantes de *Avulavirinae* no Brasil, analisar filogeneticamente as espécies virais encontradas e prever um possível surto viral de *Avulavirinae* no país evitando perdas econômicas e mantendo a saúde de animais silvestres. Foram testadas no total 1001 amostras, coletadas de diversas regiões do Brasil, utilizando PCR e seminested convencional, e submetidas à eletroforese, 97 amostras apresentaram banda na altura esperada do gel e foram sequenciadas, uma amostra foi positiva no sequenciamento e foi feita uma tentativa de isolamento em ovos embrionados de galinha. Quando comparado com o banco de dados do NCBI, a sequência da amostra PNRJ 79, coletada de um indivíduo da espécie *Calidris fuscicollis*, apresentou 82% de identidade em comparação com o antigo avulavirus aviário 1, o que pode significar um vírus ainda não identificado. O isolamento viral não pôde ser confirmado pelo teste de PCR, mas o teste de HA apresentou unidades hemaglutinantes. Embora não tenha sido possível obter dados precisos sobre a patogenicidade viral, este trabalho foi capaz de identificar e compreender a biologia de um agente patógeno numa importante rota migratória.

**Palavras-chave:** *Paramyxoviridae*. *Avulavirinae*. Aves Migratórias. Biologia Molecular. Brasil

## ABSTRACT

SOARES, N.U. **Eco-Epidemiology of Avulavirinae in wild birds from different regions of Brazil**. 2019. p.74. Masters thesis (Science) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

The *Avulavirinae*, which belongs to the *Paramyxoviridae* family, have twenty viral species described around the world that infect wild and commercial poultry. Due to its mortality, the avian *Orthoavulavirus* 1, Newcastle disease virus or avian paramyxovirus 1 (APMV-1) is one of the major causes of economic losses to the world aviculture. In 2017, Brazil was the second major exporter of chicken in the world, generating more than 7 million dollars in recipe. This viruses were primarily found in birds with migratory behaviour, that way its disseminated across the world. In the last ten years, ten novel species of this subfamily were characterized. The main goals of this work were to verify the presence of *Avulavirinae* in birds in Brazil, phylogenetically analyse the found species and predict a possible outbreak of *Avulavirinae* in the country, avoiding economic losses and maintaining the health of wild animals. A total of 1001 samples, collected from different regions of Brazil, were tested by PCR and conventional seminested, then submitted to electrophoresis. From those, 97 samples presented positive results and were subsequently sequenced. One sample was considered positive after sequencing and isolation of the virus in chicken embryos were used amplify the virus. Blast search of this sequence showed homology with the old avian avulavirus 1, collected from one individual of the *Calidris fuscicollis* species, with 82% sequence identity, this result could imply that this is an yet uncharacterized virus. The viral isolation could not be confirmed by PCR testing, but the HA testing has presented haemagglutinating particles. Although it was not possible to obtain precise data about viral pathogenicity, this work was able identify and comprehend the biology of an important pathogen in an important migratory route.

**Keywords:** *Paramyxoviridae*. *Avulavirinae*. Migratory birds. Molecular Biology. Brasil.

## INTRODUÇÃO

*Paramyxoviridae* é uma família viral pertencente ao reino *Riboviria*, filo *Negarnaviricota*, subfilo *Haploviricotina*, classe *Monjiviricota*, ordem *Mononegavirales*. O genoma é constituído de uma fita de RNA fita simples, senso negativo (3'-5'), e pode codificar de 7 a 10 proteínas dependendo da espécie (N-P/C/V-M-F-HN-L). O tamanho do genoma varia de 15 kb a 19 kb (LAMB e PARKS, 2013).

A família *Paramyxoviridae* se divide em 4 subfamílias: *Metaparamyxovirinae*, *Orthoparamyxovirinae*, *Rubulavirinae* e *Avulavirinae*. *Avulavirinae* é dividida em três gêneros: *Metaavulavirus*, *Paraavulavirus* e *Orthoavulavirus* (ICTV, 2019). A doença de Newcastle (NDV) é a espécie viral da Subfamília *Avulavirinae* mais estudada, foi descrita como responsável por um alto número de óbito de aves comerciais, causando grandes perdas econômicas ao redor do globo.

Os sinais clínicos podem variar desde assintomáticos à morte súbita, dependendo da patogenicidade viral. Mas os sintomas mais comuns são: diarreia, tremores, crise respiratória grave, edemas nos olhos e na cabeça, anorexia, torcicolo e em fêmeas a produção de ovos é drasticamente reduzida (ALLAN, LANCASTER e TOTH, 1978; MCFERRAN e MCCRACKEN, 1988).

A avicultura é uma atividade muito rentável para o Brasil. Em 2017, o Brasil foi o segundo maior exportador de carne de frango do mundo e movimentou mais de 7 bilhões de dólares além de mais de 4 mil toneladas de frango (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL, 2018).

O Brasil é o segundo país com maior diversidade em aves, com 1901 espécies, esse número corresponde a quase 20% de todas as aves do mundo, deste valor 15% são de aves endêmicas brasileiras. Do total de espécies aviárias, cerca de 197 apresentam algum tipo de deslocamento considerado migratório. Cercas de 104 espécies (53%) se reproduzem no país, as outras 93 espécies (47%) se reproduzem em outros países (CEMAVE/ICMBio, 2016).

Devido aos diversificados biomas brasileiro, todos os anos diversas espécies de aves migram para o Brasil anualmente, e durante o percurso são expostas a diferentes parasitas, sendo vetores de diversos tipos de doenças.

## CONCLUSÃO

O presente estudo foi capaz de detectar a presença de estirpes virais pertencentes à subfamília viral *Avulavirinae*. Os protocolos e primers escolhidos mostraram-se eficientes nestas detecções, e as degenerações eficientes na detecção de espécies virais ainda desconhecidas pelo banco de dados do NCBI. No entanto não foi possível assegurar que o isolamento viral foi bem sucedido, sendo assim também não há inferência sobre a patogenicidade dessa espécie viral, ou sua capacidade de crescer em ovos de galinhas (*Gallus gallus*).

Devido a semelhança a outros NDV depositados no banco de dados de genomas do NCBI, existe a possibilidade do vírus encontrado na amostra ser considerado uma espécie nova, e mais divergente, da família *Paramyxoviridae*, subfamília *Avulavirinae*, gênero *Orthoavulavirus* aviário, sendo clado-irmão de *Orthoavulavirus* aviário 1 classe I, e também partilha ancestralidade próxima com *Orthoavulavirus* aviário 16 e *Orthoavulavirus* aviário 9 (dados preliminares).

A detecção do vírus em uma ave silvestre que apresenta movimentação em uma rota migratória, cuja presença viral foi detectada anteriormente, demonstrando a presença de espécies novas e já conhecidas, evidencia que estudos relacionados a pesquisas virais nestas aves e em suas rotas migratórias são de suma importância para a compreender a forma de disseminação desses vírus, além disso entender a evolução do vírus nesses hospedeiros nos quais foram descobertas novas espécies de *Avulavirinae* nos últimos anos.

Trabalhos como este se mostram necessários visto que a cada ano novas espécies virais são descobertas e estudadas, o impacto que um patógeno pode causar é imenso e conhecer sua biologia é importante para desenvolver novas pesquisas, evitar grandes abalos econômicos e assegurar a saúde de aves e outros silvestres.

## REFERÊNCIAS

Allan, W. H., J. E. Lancaster, and B. Toth. Newcastle disease vaccines—Their production and use. **FAO Animal Production and Health Series** No. 10. FAO: Rome, Italy. 1978.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (Brasil) (Org.). **Relatório Anual 2018**. Brasil, 2018. 176 p. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/>>. Acesso em: 2 out. 2019.

BALASURIYA, Udeni B.r. et al. Paramyxoviridae and Pneumoviridae. In: MACLACHLAN, N.; DUBOVI, Edward J. **Fenner's Veterinary Virology**. 6. ed. Amsterdã: Elsevier, 2017. Cap. 17. p. 327-356.

CEMAVE/ ICMBio. **Relatório anual de rotas e áreas de concentração de aves migratórias no Brasil**. Cabedelo, PB: 2016.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. ICTV. (Org.). **Paramyxoviridae**. 2019. Disponível em: <[https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna\\_viruses/199/paramyxoviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna_viruses/199/paramyxoviridae)>. Acesso em: 26 set. 2019.

LAMB, Robert A.; PARKS, Griffith D. Paramyxoviridae. In: KNIPE, David M.; HOWLEY, Peter M.. **Fields Virology**. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. Cap. 33. p. 957-995.

McFerran, J. B. and R. M. McCracken. Newcastle disease. In D. J. Alexander (ed.). Newcastle Disease. **Kluwer Academic Publishers**: Boston, MA, 161–183. 1988.