

RESUMO CIENTÍFICO - DIAGNÓSTICO LABORATORIAL EM ANIMAIS
SILVESTRES E EXÓTICOS

**DETECÇÃO MOLECULAR DE REPTARENAVÍRUS EM FEZES DE BOA
CONSTRUCTOR AMARALI**

Josana Kapronezai (josana.kapronezai@butantan.gov.br)

Cíntia Yumi Fugiwara (cintia.fugiwara@butantan.gov.br)

Kalena Barros Da Silva (kalena.barros@gmail.com)

Selma Maria De Almeida Santos (selma.santos@butantan.gov.br)

Viviane Fongaro Botosso (viviane.botosso@butantan.gov.br)

A doença do corpúsculo de inclusão (BID), reconhecida desde 1970 em boídeos de cativeiro e recentemente atribuída ao vírus da família Arenaviridae, gênero Reptarenavirus, é uma doença infecciosa progressiva, geralmente fatal e que pode dizimar plantéis inteiros. Assim, no monitoramento sanitário do biotério, foram coletadas amostras para pesquisa de reptarenavírus por PCR e o diagnóstico positivo de uma Boa constrictor amarali foi confirmado por sequenciamento genético. Foi realizada nova coleta de amostras e diante da confirmação dos resultados, o animal foi submetido à eutanásia e necropsia. Considerando a importância do monitoramento sanitário e o estresse associado à contenção e manipulação dos animais na coleta invasiva de amostras, este trabalho foi realizado a fim de verificar a possibilidade de detecção do reptarenavírus nas fezes, bem como sua estabilidade no ambiente.

Um segmento da parte final do intestino contendo fezes foi coletado em tubo estéril, livre de DNase e RNase e mantido em gelo até a chegada ao

laboratório. Em cabine de segurança biológica o segmento intestinal foi aberto e as fezes foram distribuídas em sete tubos estéreis e livres de DNase e RNase. Um dos tubos foi imediatamente congelado à -80°C, representando o dia 0 do experimento. Os demais tubos foram mantidos à temperatura ambiente e a cada intervalo (dias 1, 2, 3, 6, 7 e 8) uma das alíquotas foi congelada a -80°C. Uma alíquota de fezes de *Bothrops jararaca*, com resultados negativos para reptarenavírus em amostras clínicas foi utilizada como controle negativo. Uma alíquota de água foi utilizada como controle dos reagentes da PCR.

A extração dos ácidos nucleicos virais (em duplicata) e a síntese de cDNA foram realizadas utilizando-se os kits MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit e High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems™) respectivamente, de acordo com as instruções do fabricante. Para a reação de PCR foram utilizados o kit Platinum PCR SuperMix Kit (Invitrogen™) e primers específicos (1) em um termociclador Veriti Applied Biosystems.

Os produtos amplificados foram identificados por eletroforese em gel de agarose a 1,2%, usando GelRed™ (1:10,000) sob luz UV. Marcadores de peso molecular de 100 mpb foram utilizados para estimar o tamanho dos produtos.

A amplificação do fragmento de 821 pb ocorreu em todas as alíquotas testadas (dias 0, 1, 2, 3, 6, 7 e 8). Nos controles negativos (água e fezes de *Bothrops jararaca*) não houve amplificação. Os resultados obtidos demonstram que o reptarenavírus é eliminado nas fezes, sendo possível sua detecção em material mantido à temperatura ambiente por até 8 dias.

Esse achado tem grande importância para o manejo e para o monitoramento sanitário dos biotérios. Estudos complementares relativos à viabilidade dos vírus encontrados nas fezes são imprescindíveis para determinar a epidemiologia do patógeno.

Referência bibliográfica: 1- Noordin M.M., et al. In vitro isolation and molecular identification of reptarenavirus in Malaysia. *Virus Genes*; 2016; 52:640–650.

Financiamento FAPESP Projeto 2019/12303-4.