

# RASTREAMENTO DE RANAVÍRUS A PARTIR DE RÃS-TOURO (*Lithobates catesbeianus*) PROVENIENTES DE RANÁRIOS COMERCIAIS DE SÃO PAULO

Cinthia Rodrigues OLIVEIRA<sup>1,2</sup>; Sthefany RosaALFAIA<sup>1</sup>; Fernanda Lie IKARI<sup>1</sup>; Patrícia Teixeira COELHO<sup>3</sup>; André Sangineto RESENDES<sup>2</sup>; Loiane Sampaio TAVARES<sup>4</sup>; Ricardo Luis MORO<sup>5</sup>; Fabio Rosa SUSSEL<sup>6</sup>; Claudia Maris FERREIRA<sup>7</sup>

1 Pós-graduanda, Instituto de Pesca – APTA/SAA, São Paulo, SP

2 [cinthiar.oliveira@gmail.com](mailto:cinthiar.oliveira@gmail.com)

3 Pós-doutoranda, Instituto de Pesca – APTA/SAA, São Paulo, SP

4 Pós-graduanda, Universidade de São Paulo FZEA, Pirassununga, SP

5 Universidade de São Paulo FZEA, Pirassununga, SP

6 Polo Regional do Centro Leste - APTA/SAA, UPD Pirassununga, SP

7 Instituto de Pesca – APTA/SAA, São Paulo, SP

\*Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo: FAPESP, processo 2015/24590-7 e CAPES

**Palavras-chave:** iridoviridae; ranavirose; FV3; ranicultura; anuro; Brasil

## INTRODUÇÃO

Os anfíbios estão envolvidos em episódios de declínio e extinção em todo o mundo e as doenças emergentes são promotoras de extinção em diversos locais (SCHLOEGEL *et al.*, 2012). A criação comercial no Brasil utiliza a rã-touro americana, reclassificada como *Lithobates catesbeianus*, em virtude da adaptação e bons índices zootécnicos (MOREIRA *et al.*, 2013). A modernização das técnicas de criação elevou a densidade promovendo mais susceptibilidade dos espécimes aos patógenos.

A ranavirose é uma das causas do declínio de anfíbios na última década (MILLER *et al.*, 2008). O ranavírus, é um gênero da família Iridoviridae, são vírions grandes, com genoma linear de DNA de fita dupla (140 a 200Kb), com ou sem envelope. Em alguns surtos a mortalidade chega a 90%. Todos os iridovirus possuem a proteína MCP (Major Capsid protein) conservada, sendo ferramenta de detecção para PCR (CHINCHAR *et al.*, 2011). Os surtos são frequentes nos meses quentes e já atinge as Américas, Ásia, Europa e a região do Pacífico sendo sua notificação obrigatória (OIE, 2012). O objetivo do estudo foi rastrear a presença do Ranavírus Frog vírus 3 (FV3) em ranários comerciais no Estado de São Paulo.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram cedidas por cinco ranários de municípios paulistas nos meses de primavera e verão de 2016, a saber: Pindamonhangaba (C1), Juquitiba (C2), Jaboticabal (C3), Ibaté (C4) e Matão (C5). Desses locais obteve-se 20 rãs e 20 girinos, exceto Matão onde coletou se apenas 20 girinos, totalizando 180 espécimes. Os animais foram eutanasiados com gelo, cloridrato de Benzocaína (4:1) e secção da coluna cervical. Removeu-se lóbulo médio do fígado, um rim e o baço. O material foi fragmentado em porções de 0,1 g e congelado. A esterilização instrumental foi feita com Virkon® e fogo. As amostras foram processadas no laboratório de microbiologia multiusuário e higiene zootécnica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) na USP - Pirassununga. A extração do DNA foi feita via Kit PROMEGA SV Wizard®. O DNA submetido a PCR com dois primers MCP1 e MCP2. E os amplicons submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%. Considerou-se infectadas as amostras cujo fragmento apresentou peso molecular esperado no marcador igual ao controle positivo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos cinco ranários amostrados apenas em Juquitiba (C2) foi detectada a presença do FV3. Via PCR e eletroforese confirmou-se infectados 50% dos espécimes do estudo. É preocupante a circulação do FV3 em ranários do Brasil onde o manejo é inadequado para a contenção e desinfecção de patógenos, sendo uma ameaça aos anfíbios de cativeiro e silvestres. Espécies endêmicas são mais propensas a infecções por ranavírus. Os surtos podem ocorrer rapidamente de nenhum óbito para mortalidade total em questão de dias e o transporte de animais vivos portadores de infecções temporariamente subclínicas podem explicar a disseminação da doença inclusive dentro dos ranários (GRAY *et al.* 2015). O manejo higiênico adequado é o método mais barato de manter os animais saudáveis. E para essa finalidade estão disponíveis no mercado produtos químicos testados capazes de eliminar partículas de Iridovírus: o hipoclorito Clorox Bleach®, Nolvasan® e Vikon® (Bryan *et al.*, 2009).

## CONCLUSÃO

O FV3 já está presente num ranário comercial no estado de São Paulo e é primordial evitar a disseminação do patógeno no ambiente natural e sua permanência dentro destes cultivos comerciais.

## REFERÊNCIAS

- BRYAN, L. K.; BALDWIN, C. A.; GRAY, M. J.; MILLER, D. L. 2009 Efficacy of select disinfectants at inactivating Ranavirus. *Diseases of Aquatic Organisms* 84:89-94
- CHINCHAR, V. G.; YU, K. H.; JANCOVICH, J.K. 2011 The Molecular Biology of Frog Virus 3 and other Iridoviruses Infecting Cold-Blooded Vertebrates. *Viruses*, 3: 1959-1985.
- GRAY, M.J.; CHINCHAR, G.V. 2015. Ranaviruses Lethal Pathogens of Ectothermic Vertebrates, New York. *Springer Open*, 74p.
- MILLER, D.L.; RAJEEV, S.; BROOKINS, M.; COOK, J.; WHITTINGTON, L.B.S., BALDWIN, C.A. 2008 Concurrent infection with Ranavirus, *Batrachochytrium dendrobatidis*, and *Aeromonas* in a captive anuran colony. *Journal Zoo Wildlife Medicine*, 39(3): 445-449.
- MOREIRA, C.R.; HENRIQUES, M.B.; FERREIRA, C.M. 2013 Frog farms as proposed in Agribusiness aquaculture: economic viability based in feed conversion. *Boletim do Instituto de Pesca (Impresso)*, 39: 389-399.
- OIE. *Infection with Ranavirus Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals: OIE World Organisation for Animal Health: 20p. 2012. Disponível em <<http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-manual/access-online/>>* Acesso em Outubro de 2015.
- SCHLOEGEL, L.M.; TOLEDO, L.F.; LONGCORE, J.E.; GREENSPAN, S.E.; VIEIRA, C.A.; LEE, M.; ZHAO, S.; WANGEN, C.; FERREIRA, C.M.; HIPOLITO, M.; DAVIES, A.J.; CUOMO, C.A.; DASZAK, P.; JAMES, T.Y. 2012 Novel, panzootic and hybrid genotypes of amphibian chytridiomycosis associated with the bullfrog trade. *Molecular Ecology*, 21:5162-5177.