

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Dissertação

**Identificação molecular de poxvírus aviário Clado E na região sul do Brasil.**

**Leonardo Clasen Ribeiro**

Pelotas, 2020

**Leonardo Clasen Ribeiro**

**Identificação molecular de poxvírus aviário Clado E na região sul do Brasil.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Prof. Dr. Gilberto D'Ávila Vargas  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvia de Oliveira Hübner

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

R484i Ribeiro, Leonardo Clasen

Identificação molecular de poxvírus aviário Clado E na região sul do Brasil / Leonardo Clasen Ribeiro ; Gilberto D'Ávila Vargas, orientador ; Silvia de Oliveira Hübner, coorientadora. — Pelotas, 2020.

44 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Análise filogenética. 2. *Avipoxvirus*. 3. Boubas aviárias. 4. Clado E. 5. DNA Polimerase. I. Vargas, Gilberto D'Ávila, orient. II. Hübner, Silvia de Oliveira, coorient. III. Título.

CDD : 636.50896

Leonardo Clasen Ribeiro

Identificação molecular de poxvírus aviário Clado E na região sul do Brasil

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 31/01/2020

Banca examinadora:

Prof. Dr. Gilberto D'Avila Vargas (Orientador)  
Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Vaucher  
Doutor em Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr<sup>a</sup>. Francielle Liz Monteiro  
Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliza Simone Viegas Sallis  
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Santa Maria

### **Dedicatória**

Aos meus pais Arzeli Bretanha Ribeiro e Rosane Kurz Clasen,  
meus irmãos Marcelo Clasen Ribeiro e Luciana Clasen Ribeiro,  
e minha vó Palmira Gonçalves Bretanha Ribeiro,  
pessoas de vital importância para a realização desse trabalho  
e para minha vida pessoal.

## **Agradecimentos**

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais e irmãos, pela força, incentivo e confiança, fatores vitais para tornar possível a realização do mestrado. Um agradecimento especial para minha vó paterna, por servir de exemplo e ser uma das principais responsáveis pela minha educação. Sem ela tenho certeza que nada disso seria possível.

Gostaria de agradecer também ao meu orientador de mestrado (e de estágio final) professor Gilberto, por me acolher nessa volta à UFPel, sendo o responsável por abrir as portas tanto do mercado de trabalho, quanto do ambiente acadêmico, seria impossível não o agradecer. Aproveitar também para agradecer minha coorientadora professora Sílvia, que me apresentou o projeto no qual desenvolvi minha dissertação e, como ela mesmo me diz: “tenho muitos anos de vida acadêmica” me ensinando e aconselhando em diversas conversas.

Aos professores do Laboratório de Virologia, Marcelo e Geferson, que me acolheram quando cheguei perdido ao laboratório e que, seja pela ajuda nos artigos e trabalhos ou através de conselhos, me ajudaram a conseguir chegar até aqui.

Agradecer aos demais membros do LabVir, desde os estagiários aos colegas de pós-graduação, seja os mais antigos pela experiência e os mais novos pela parceria e ajuda. Não esquecer o Zeca pelas conversas e pelas boas histórias, Paulo pelos conselhos de alguém que já viveu bastante coisa (e aprontou também) e a Dona Márcia por me aturar no dia a dia. Um agradecimento também a nossa pós-doutoranda Francielle, que me iniciou e ensinou as práticas de biologia molecular, tenho certeza que esse trabalho também não teria saído sem ela.

Aos amigos da Panela do Mal, Grupo do Trago, Apae Poker Team, Amigos da Balsa e mais alguns que não se enquadram nesses grupos (um mineiro e um paulista perdidos) meu muito obrigado por me aguentarem e me alegrarem nas muitas vezes que precisava.

E finalizando, a todos aqueles que contribuíram na minha vida pessoal e acadêmica nesses últimos anos.

Muito obrigado.

***"Você nunca está errado em fazer a coisa certa."  
(Mark Twain)***

## Resumo

Ribeiro, Leonardo Clasen. **Identificação molecular de poxvírus aviário Clado E na região sul do Brasil**. 2020. 44f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

A avicultura comercial constitui uma das principais atividades econômicas do Brasil, classificando o país como o maior exportador e o segundo maior produtor de carne de frango do mundo. Além disso, criações de fundo de quintal envolvendo animais para fins de postura, corte ou *pet* também fazem parte do cenário nacional. Atualmente, a natureza da avicultura moderna aumenta a probabilidade de ocorrência de surtos de diversas doenças, devido a concentração das unidades produtoras e da densidade dos animais nos alojamentos. A Boubá Aviária é uma das enfermidades de importância na produção avícola, podendo levar a perda significativa da produtividade ou até mesmo a morte das aves. A doença é causada por vírus pertencentes ao gênero *Avipoxvirus*, podendo ser transmitida através de artrópodes ou através do contato direto do tecido lesionado com o agente. De acordo com a similaridade entre os genomas desses vírus, o gênero foi subdividido em três clados: A, B e C, porém com a identificação de isolados que não se enquadravam nos mesmos, dois novos clados, D e E, foram propostos. A vacinação é o principal meio para controle e prevenção da doença, porém, ainda existem relatos de ocorrência de surtos em aves vacinadas, provavelmente devido à baixa proteção cruzada contra novas cepas circulantes oferecida pela vacina. Ainda existe pouco conhecimento quanto à epidemiologia e distribuição do vírus em relação às suas características moleculares. Com base nisso, realizou-se a caracterização molecular do vírus em amostra de uma galinha doméstica criada em fundo de quintal no município de Pelotas, que apresentava sinais clínicos característicos da enfermidade. Através da técnica de PCR e construção da árvore filogenética das sequências obtidas dos genes que codificam a proteína de núcleo 4b (P4b) e DNA polimerase, classificou-se a primeira cepa de *Avipoxvirus* pertencente ao proposto clado E no Brasil. Com o resultado desse trabalho, evidencia-se a necessidade de um maior estudo sobre a epidemiologia do vírus no país, devido à capacidade do mesmo de acometer aves já vacinadas.

**Palavras-chave:** Análise Filogenética; *Avipoxvirus*; Boubá Aviária; Clado E; DNA Polimerase; P4b.



## Abstract

Ribeiro, Leonardo Clasen. **Molecular identification of Clade E avian poxvirus in southern Brazil**. 2020. 44f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Commercial poultry farming is one of Brazil's main economic activities, ranking the country as the largest exporter and second largest chicken meat producer in the world. In addition, backyard creations involving animals for laying, cutting or pet purposes are also part of the national scene. Currently, the nature of modern poultry farming increases the likelihood of outbreaks of various diseases due to the concentration of production units and the density of animals in housing. Fowl pox disease is one of the important diseases in poultry production and can lead to significant loss of productivity or even death of birds. The disease is caused by viruses belonging to the genus *Avipoxvirus*, which can be transmitted through arthropods or through direct contact of the injured tissue with the agent. According to the similarity between the genomes of these viruses, the genus was subdivided into three clades: A, B and C, but with the identification of isolates that did not fit into them, two new clades, D and E, were proposed. Vaccination is the primary means of disease control and prevention, but there are still reports of outbreaks in vaccinated birds, probably due to the low cross-protection against new circulating strains offered by the vaccine. There is still little knowledge about the epidemiology and distribution of the virus in relation to its molecular characteristics. Based on this, the molecular characterization of the virus was performed in a sample of a domesticated chicken reared in the backyard of Pelotas, which presented characteristic clinical signs of the disease. Through the PCR technique and construction of the phylogenetic tree of the sequences obtained from the genes encoding the 4b nucleus protein and DNA polymerase, the first *Avipoxvirus* strain belonging to the proposed clade E was classified in Brazil. With the result of this work, it is evident the need for a larger study on the epidemiology of the virus in the country, due to its capacity to affect already vaccinated birds.

**Keywords:** Phylogenetic Analysis; *Avipoxvirus*; Fowl Pox; Clade E; DNA Polymerase; P4b.

## Lista de Figuras

Figura 1	Árvore filogenética das sequências parciais do gene da P4b dos Avipoxvirus (KUNERT-FILHO et al., 2016).....	15
Figura 2	Figure1. Phylogenetic tree of polymerase gene sequences amplified of avian poxvirus detected using primer PPol.....	32
Figura 3	Figure2. Phylogenetic tree of P4b sequences amplified of avian poxvirus.....	33

## Lista de Abreviaturas e Siglas

APV	<i>Avipoxvirus</i>
bp	Pares de bases
CAM	Membrana corioalantoide
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EUA	Estados Unidos da América
FP	Fowlpox
ITRs	Repetição terminal invertida
Kbp	Mil pares de bases
mRNAs	RNA mensageiro
ORF	Fase aberta de leitura
P4b	Proteína de núcleo 4b
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PCR-RFLP	Reação em cadeia da polimerase - polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição
PI	Pós-infecção
PIB	Produto interno bruto
PMPD	Programa Nacional de Pós-doutorado
QT-35	Linhagem celular de fibrossarcoma de codorna japonesa
VER	Vírus da reticuloendoteliose
RNA	Ácido ribonucleico
SPF	Livre de patógenos específicos
UV	Ultravioleta

## Lista de Símbolos

'	Minutos
"	Segundos
°	Graus
°C	Grau Celsius
™	Marca Registrada

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>12</b>
<b>2 Revisão da Literatura.....</b>	<b>14</b>
2.1 Etiologia.....	14
2.2 Identificação molecular.....	14
2.3 Epidemiologia.....	16
2.4 Ciclo Replicativo.....	18
2.5 Patogenia e sinais clínicos.....	19
2.6 Diagnóstico.....	20
2.6.1 Isolamento viral.....	20
2.6.2 Histopatologia.....	20
2.6.3 Diagnóstico molecular.....	20
2.7 Prevenção e Controle.....	21
<b>3 Artigo.....</b>	<b>22</b>
<b>4 Considerações Finais.....</b>	<b>34</b>
<b>Referências.....</b>	<b>35</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>40</b>

## 1 Introdução

A avicultura comercial no Brasil é uma das principais atividades econômicas nacionais, contribuindo com cerca de 1,5% do produto interno bruto (PIB). Desenvolveu-se rapidamente a partir da década de 70, saindo da clássica criação de subsistência para a avicultura moderna (RODRIGUES et al., 2014). Os dados mais recentes, referentes ao ano de 2018 sobre a produção avícola, classificam o Brasil como o segundo maior produtor de carne de frango no mundo, com 12,9 milhões de toneladas e o maior exportador, com 4,1 milhões de toneladas, tendo um consumo *per capita* estimado de 42kg. Quanto à produção de ovos, o Brasil produziu 44,5 bilhões de unidades, tendo exportado 11,67 mil toneladas, com consumo per capita de 212 ovos (SCHMIDT e Silva, 2018; ABPA, 2019). Além da avicultura comercial, as criações de fundo de quintal ainda estão presentes na maioria do território nacional, envolvendo animais para fins de postura, corte ou *pet*.

Devido à natureza da avicultura moderna, notou-se o aumento da concentração de unidades produtoras e da densidade de animais nos alojamentos, bem como o aumento do trânsito internacional de produtos e serviços. Dessa maneira, a probabilidade de que ocorram surtos de diversas doenças aumenta cada vez mais, sendo essas enfermidades oriundas de outros locais ou endêmicas, a partir de mutações ou variações genéticas (DEVLIN et al., 2016; TRIPATHY & REED, 2020).

Além da avicultura comercial, ameaças a biodiversidade de aves no país também são motivos de preocupação, devido a possíveis extinções e desequilíbrio de populações. Existem hoje cerca de 1900 espécies de aves catalogadas, distribuídas nos mais variados biomas nacionais, alguns destes, como lagoas, lagunas e o extenso litoral, conhecidos por fazerem parte de rotas migratórias de diversas aves (LIMA & BATALLA, 2018). Algumas destas aves migratórias são conhecidas por disseminar agentes infecciosos, como os vírus da Influenza Aviária, Febre do Nilo Ocidental e da Boubá Aviária (VIANA et al., 2016; KIM et al., 2017). Casos como o declínio e a extinção de diversas espécies de aves nativas das ilhas do Havaí, devido a introdução do agente causador da Boubá Aviária (*Avipoxvirus*) e

de um dos seus agentes transmissores (*Culex quinquefasciatus*), demonstram os possíveis impactos de enfermidades exóticas na fauna silvestre (VAN RIPER III & FORRESTER, 2007; VANDERWERF et al., 2016).

A Boubá Aviária é uma doença causada por vírus do gênero *Avipoxvirus*, pertencentes a família *Poxviridae* e subfamília *Chordopoxvirinae*. Dentro desse gênero existem dez espécies reconhecidas e três espécies propostas (ICTV, 2018). Esses vírus são envelopados e possuem genoma composto por ácido desoxirribonucleico (DNA) linear de fita dupla, tendo cerca de 300 kbp de extensão. Os sinais clínicos da enfermidade são baseados em três formas distintas de apresentação: cutânea, diftérica e sistêmica, sendo a primeira de maior casuística (AFONSO et al., 2000; ÁVILA-REYES et al., 2019).

A transmissão da Boubá Aviária pode ocorrer mecanicamente através de artrópodes hematófagos ou pelo contato direto do tecido epitelial lesionado com o vírus, sendo esse extremamente resistente no ambiente e facilmente carregado por água, alimento e cama aviária contaminada. Algumas espécies de insetos já foram identificadas como importantes vetores mecânicos para esse vírus, como mosquitos dos gêneros *Culex* e *Aedes* (YEO et al., 2019).

O controle e a prevenção da enfermidade envolvem medidas de biossegurança, com controle do trânsito de animais, veículos e pessoas, controle de mosquitos e desinfecções nos criatórios. Além disso, existem também vacinas comerciais disponíveis, as quais praticamente eliminaram a doença na indústria avícola. Apesar disso, surtos em aves vacinadas ainda são relatados, potencialmente devido às cepas vacinas oferecerem baixa proteção cruzada para novas cepas circulantes, como por exemplo, as cepas pertencentes ao clado E (BÁNYAI et al., 2015; MAPACO et al., 2017; TRIPATHY & REED, 2020).

A nomenclatura das espécies de avipoxvirus é realizada utilizando o prefixo do animal no qual o vírus foi isolado, adicionado ao sufixo “pox” e a palavra “virus”. Devido à capacidade de uma cepa viral afetar diversas espécies de aves, outra classificação foi proposta, separando o gênero dos *Avipoxvirus* em três clados, A, B e C, baseada nas diferenças moleculares das cepas. Nesses grupos, estão agrupadas as cepas de galinhas, canários e psitacídeos, respectivamente (JARMIN et al., 2006; GYURANECZ et al., 2013; ICTV, 2018).

Devido ao pouco conhecimento sobre a epidemiologia e a distribuição do vírus no país, estudos com enfoque na identificação das cepas endêmicas no Brasil

necessitam ser realizados para um melhor entendimento da doença e suas possíveis consequências na avicultura industrial e avifauna brasileira. Com o objetivo de ampliar o conhecimento epidemiológico acerca do poxvírus aviário no país, buscou-se, através de técnicas moleculares, a identificação do vírus em casos clínicos suspeitos recebidos pelo Laboratório de Virologia e Imunologia da Universidade Federal de Pelotas.



## 2 Revisão da Literatura

### 2.1 Etiologia

Os poxvírus formam uma complexa família de vírus, capazes de infectar diversas espécies animais. A família *Poxviridae* é dividida em duas subfamílias: *Entomopoxvirinae*, abrangendo os vírus que infectam animais não vertebrados e *Chordopoxvirinae*, que possuem como hospedeiros os animais vertebrados. A subfamília *Chordopoxvirinae* é composta por onze gêneros e quarenta espécies, sendo o gênero *Avipoxvirus* o único com capacidade de infectar animais não mamíferos. Esse gênero engloba dez espécies: *Canarypox virus*, *Fowpox virus*, *Juncopox virus*, *Mynahpox virus*, *Pigeonpox virus*, *Psittacinepox virus*, *Quailpox virus*, *Sparrowpox virus*, *Starlingpox virus* e *Turkeypox virus* (ICTV, 2018).

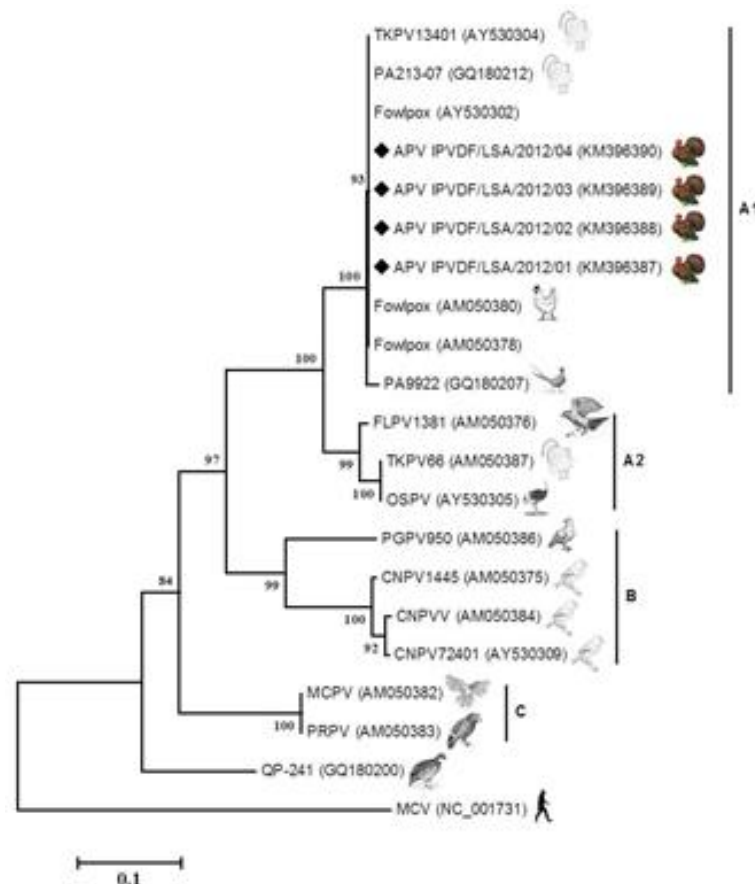
Os *Avipoxvirus* (APV, do inglês *avianpoxviruses*) são envelopados e possuem genoma DNA de fita dupla linear com extensão de aproximadamente 300 kpb (mil pares de bases). O genoma é composto por duas regiões flangeadoras chamadas de “repetição terminal invertidas” (ITRs, do inglês *inverted terminal repeats*), com diversas fases abertas de leitura (ORF, do inglês *open reading frame*) (RAJA, 2019). Essa região também contém diversos genes homólogos que desempenham um papel indispensável na transcrição viral, bem como, na montagem dos vírions, sendo genes conservados entre as espécies de avipoxvirus (TULMAN et al., 2014).

### 2.2 Identificação molecular

Para entender a especificidade de hospedeiros, bem como a variação de genoma das diferentes cepas de *Avipoxvirus* e sua virulência, grupamentos foram propostos para dividir os membros do gênero. A classificação das cepas pela espécie do hospedeiro no qual o vírus foi isolado primeiramente não foi totalmente efetiva, principalmente devido ao fato da maioria das cepas conseguirem infectar mais de uma espécie de ave (RAJA, 2019). Muitos estudos utilizaram diferentes *primers* para amplificar diversas regiões alvo do genoma dos APVs através da técnica de PCR, sendo o *locus* 167, que codifica a P4b, o mais utilizado para a

classificação filogenética (GHALYANCHILANGEROUDI & HOSSEINI & MORSHED, 2018).

Com base nas sequências disponíveis nos bancos de dados, a classificação mais aceita atualmente foi proposta por Jarmin et al. (2006), separando os APVs em três grandes clados, sendo o clado A representado pelo *Fowlpox virus*, clado B pelo *Canarypox virus* e clado C pelo *Psittacinepox virus*. Dentro dos clados foram realizadas divisões, sendo o clado A dividido em sete subclados (A1, A2, A3, A4, A5, A6 e A7) e o clado B em três subclados (B1, B2 e B3) (LE LOC'H et al., 2015). Dentro dos subclados, podemos citar o A1 sendo composto por vírus isolados de aves da ordem *Galliformes*, subclado A2 com cepas de vírus que infectam pombas domésticas (ordem *Columbiformes*) e B1 com cepas isoladas de diversas aves da ordem *Passeriformes*, como demonstrado pela Figura 1 (GYURANECZ et al., 2013; BÁNYAI et al., 2015; KUNERT-FILHO et al., 2016).



**Figura 1** - Árvore filogenética das sequências parciais do gene da P4b dos Avipoxvirus (KUNERT-FILHO et al., 2016)

Entretanto, alguns autores têm demonstrado a capacidade de uma mesma espécie viral estar agrupada em clados diferentes, confirmando a teoria de que

existem variações na gama de cepas que podem afetar um mesmo hospedeiro. Jarmin et al. (2006) demonstraram que dentre os *Pigeonpox virus* isolados de casos clínicos do estudo, alguns destes poderiam ser classificados como clados A2 e outros como B2, demonstrando a capacidade de vírus de diferentes clados afetar um mesmo hospedeiro.

Devido ao surgimento de vírus que não se enquadram nos clados atuais, dois novos clados foram propostos, sendo o clado D composto por um isolado responsável por um surto da doença em codornas e o clado E por isolados oriundos de surtos em perus e galinhas de criações comerciais na Hungria e em Moçambique, respectivamente (MANAROLLA et al., 2010; BÁNYAI et al., 2015; MAPACO et al., 2017). As aves de ambos os estudos haviam sido imunizadas com vacinas comerciais feitas a partir de cepas do clado A, demonstrando uma possível falha vacinal devido à baixa imunidade cruzada entre as cepas.

No Brasil, o primeiro estudo relatando análises filogenéticas envolvendo o vírus da Boubá Aviária foi realizado no ano de 2016, a partir de um surto em perus. Os resultados encontrados classificaram as cepas no subclado A1 (KUNERT-FILHO et al., 2016).

### 2.3 Epidemiologia

Os APVs estão distribuídos mundialmente, infectando uma elevada diversidade de aves silvestres e domésticas. Van Riper & Forrester (2008) realizaram um levantamento epidemiológico, buscando artigos e dados na literatura, para avaliar a gama de espécies aviárias suscetíveis a infecção por APV. Eles encontraram um total de 278 espécies, abrangendo 20 ordens distintas. Uma atualização desse levantamento, realizada por Carulei (2018), demonstrou um aumento para 337 espécies dentro de 77 famílias.

Na Índia, Sahu et al. (2019) descreveram a emergência dos casos de boubá aviária causados por vírus pertencentes aos subclados A1 e A3 em galinhas e pombos, respectivamente. Cepas isoladas a partir de lesões em galinhas e canários no Irã, foram classificadas como subclados A1 e B1, respectivamente, corroborando com os estudos prévios sobre os membros de cada clado (GHALYANCHILANGEROUDI & HOSSEINI & MORSHED, 2018).

No continente africano, alguns autores já realizaram trabalhos sobre a epidemiologia do APV. Mapaco et al. (2018) realizaram um estudo entre os anos de

2016 e 2018 em Moçambique, encontrando cepas pertencentes aos clados A1 e A2, porém os mesmos autores já haviam relatado o subclado A1 e o proposto clado E no ano de 2016 (MAPACO et al. 2017). Já Offerman et al. (2013) encontraram em diversas regiões da África do Sul os subclados A2 e A3.

Em um zoológico em Lisboa (Portugal), o fragmento amplificado de uma amostra de lesão em flamingo (*Phoenicopterus ruber*) apresentou 100% de identidade com cepas encontradas em aves de uma família diferente (*Otididae*), sendo classificada no subclado B2 (HENRIQUES et al., 2016). Na Bélgica, Reddy et al. (2017) identificaram cepas causadoras de surtos em pinguins (*Spheniscus humboldti*) e galinhas domésticas, classificadas como B1 e A1, respectivamente, tendo o fragmento analisado 100% de identidade com outras cepas de estudos de aves silvestres da Europa e dos Estados Unidos (EUA).

O primeiro relato de um pato migratório (*Anas crecca carolinensis*) foi realizado nos EUA, no estado do Alasca, no ano de 1979 (MORTON et al., 1979). Também nos Estados Unidos, em um dos primeiros relatos de APV em uma espécie de beija-flor, foi identificado um vírus pertencente ao subclado A3 (GODOY et al., 2013). Surtos em criações comerciais de aves com vacinação nesse país têm sido relatados, sugerindo alterações nas cepas endêmicas ou a inserção de novas cepas com baixa proteção cruzada (TRIPATHY & REED, 2020). Além disso, a inserção do genoma do vírus da reticuloendoteliose aviária (REV) no genoma dos APV tem demonstrando um aumento de virulência do mesmo, podendo ser um fator importante no ressurgimento da doença (RAJASEKARAN et al., 2019).

Durante um estudo realizado em janeiro e fevereiro de 2019 com observação de aves na Guatemala, 14 das 63 aves observadas (22,22%) na natureza apresentaram lesões macroscópicas similares a Buba Aviária. Dentro das 18 espécies observadas no estudo, oito foram visualizadas com lesões características ou tumores localizados em áreas descobertas de penas, sendo cinco migratórias e três endêmicas da região. Com a elevada prevalência dos sinais encontrados, estudos com a captura e coleta de material vem sendo propostos no país para fins de diagnóstico e epidemiologia, visto que não se sabe as possíveis consequências para a avifauna residente e migratória (ANLEU et al., 2019).

Ferreira et al. (2018) relataram o surto da doença no Brasil em perus de criação comercial já vacinados *in ovo*. Durante um ano, dezesseis mil perus foram identificados com lesões sugestivas de poxvírus, com a presença dessas no

abatedouro variando entre 1 e 40%. O controle nos lotes subsequentes só foi possível com a implementação de uma segunda dose de vacina via membrana da asa entre os 45-60 dias de vida dos animais.

Também no Brasil, Murer et al. (2018) demonstraram um surto de boubá aviária em um criatório de aves ornamentais. As aves apresentavam letargia, penas arrepiadas, dispnéia e rápida mortalidade de algumas aves após o surgimento da sintomatologia. As aves mais afetadas foram espécies de psitacídeos oriundos da Austrália. Após a análise filogenética, a cepa encontrada foi classificada como clado C, no qual os *Psittacipox virus* normalmente são enquadrados.

## 2.4 Ciclo Replicativo

A entrada e infecção do APV no hospedeiro depende de lesões no tecido epitelial, visto que o vírus não apresenta mecanismo para penetração nos tecidos intactos. Apesar disso, células da mucosa do trato respiratório superior já foram descritas como altamente suscetíveis à infecção do vírus, possibilitando a infecção via canal lacrimal, mesmo em tecido aparentemente não lesionado (ELEAZER, 1983).

Após a entrada do vírus na célula por fusão da membrana plasmática ou endocitose, o nucleocapsídeo viral é liberado no citoplasma, onde ocorre todo o ciclo replicativo do vírus, o que é uma exceção entre os vírus DNA. Os vírions do *Avipoxvirus* carregam consigo todas as enzimas para a produção e modificação dos RNAs mensageiros (mRNAs) para a síntese de suas proteínas, além de codificar todas as enzimas necessárias para a transcrição e replicação do genoma viral (BOULANGER, SMITH & SKINNER, 2000).

O início da replicação viral acontece de 12 a 24h pós infecção (PI), porém com baixa replicação do DNA viral até as 60h PI. Na fase inicial da replicação, ocorre acentuada hiperplasia epitelial, com aumento da síntese de DNA celular e aumento no número de células (em até 2,5x) até entre 60 e 72h PI, onde ocorre a queda de síntese de DNA celular e o aumento do DNA viral. Entre 72 e 90h PI, não é mais observada a hiperplasia e a síntese de DNA viral aumenta progressivamente. A partir daí é iniciada a fase de produção de proteínas virais e montagem de partículas virais maduras, que deixam a célula do hospedeiro através de brotamento ou lise (RAJA, 2019).

## 2.5 Patogenia e sinais clínicos

Tipicamente, a Boubá Aviária apresenta duas formas clínicas: cutânea e diftérica. Uma terceira forma ainda é relatada, causando principalmente sinais sistêmicos em canários devido à infecção pelo *Canarypox virus*, com elevada mortalidade. A taxa de mortalidade da enfermidade varia conforme a forma clínica apresentada, sendo a cutânea de menor impacto e severidade quando comparada à diftérica (ZHAO et al, 2014).

A forma cutânea da enfermidade se caracteriza pelo surgimento de lesões nodulares em locais ausentes de penas, como crista, barbela, pálpebras e patas. Estes locais têm maior propensão ao surgimento de lesões cutâneas, causadas por brigas, canibalismo ou picadas de insetos, propiciando a entrada do vírus. Algumas aves podem perder a visão devido aos nódulos nas pálpebras causarem lesões oculares, diminuindo a capacidade de obtenção de alimento e água pela ave, bem como sua habilidade para sobreviver na natureza (LOC'H et al., 2017; GIOTIS & SKINNER, 2019).

A característica das lesões da forma cutânea são a hiperplasia da epiderme, com o aparecimento de nódulos inicialmente brancos que aumentam de tamanho e tornam-se amarelados. Posteriormente, as lesões tendem a se tornar enegrecidas com base hemorrágica, com fácil descamação das “crostas” formadas (AKAMBI et al., 2016). Essa é a principal fase de disseminação do vírus, devido as crostas possuírem uma elevada concentração de vírions altamente resistentes ao ambiente e facilmente transmitidos a outras aves via solo, água ou alimento (LO et al., 2017).

Na forma diftérica, lesões nodulares caseosas opacas se desenvolvem na mucosa do trato respiratório superior, boca, esôfago e língua. Acontece devido a ingestão de vírions presentes no ambiente, que entram em contato com a mucosa oral. Essa forma pode influenciar na alimentação e respiração devido à obstrução das vias respiratória/digestória do animal, podendo levar a inanição, desnutrição, asfixia e morte. As formas cutâneas e diftéricas podem ocorrer no mesmo animal simultaneamente (GIOTIS & SKINNER, 2019).

A forma sistêmica da doença é relatada com maior frequência em surtos em canários, com elevada mortalidade e o aparecimento de lesões cutâneas e diftéricas associadas a sinais clínicos respiratórios. Surtos ocorridos em quarentenas e criatórios de canários demonstraram taxas de mortalidades variando entre 30 e 50% (SHAIB, 2018; ÁVILA-REYES et al, 2019).

## **2.6 Diagnóstico**

As principais técnicas utilizadas para o diagnóstico de poxvírus aviário são o isolamento viral, a histopatologia (TRIPATHY & REED, 2020) e o diagnóstico molecular, tendo como alvo parte do gene codificante para a P4b (LEE & LEE, 1997), que tem sido amplamente utilizado desde divulgação do estudo de Binns *et al.* (1989), que analisaram as características desse gene.

### **2.6.1 Isolamento viral**

O isolamento viral é realizado através da inoculação de solução contendo macerado das lesões cutâneas ou diftéricas do animal suspeito em membrana corioalantoide (CAM) de ovos de galinha embrionados livres de patógenos (SPF, do inglês *specific pathogen free*) com idade entre 9 e 12 dias. O macerado de lesões deve ser centrifugado e eluído em meio contendo antibiótico, para que não ocorra a morte do embrião devido a contaminação bacteriana. O diagnóstico é feito de cinco a sete dias após a inoculação do vírus e incubação dos ovos a 37°C, a partir da visualização de lesões pustulares focais ou espessamento generalizado da CAM devido à replicação viral (TRIPATHY & REED, 2020). O vírus também pode ser isolado em cultura de células embrionárias de galinha como fibroblastos, células renais, células da derme ou em linhagem celular de fibrossarcoma de codorna (QT-35). Dessa maneira, a replicação viral pode ser visualizada através do efeito citopático após quatro a seis dias de inoculação, consistindo na perda da morfologia celular (arredondamento das células) e necrose (SCHNITZLEIN *et al.*, 1988; GHILDYAL *et al.*, 1989).

### **2.6.2 Histopatologia**

No exame histopatológico é possível observar a hiperplasia do epitélio com corpúsculos de inclusão eosinofílicos (corpúsculos de Bollinger) no citoplasma celular através de coloração por hematoxilina-eosina (TRIPATHY & REED, 2020).

### **2.6.3 Diagnóstico molecular**

O diagnóstico molecular do poxvírus aviário pode ser feito através de técnicas de PCR, PCR-RFLP (do inglês, *restriction fragment length polymorphism*), hibridização e sequenciamento a partir do gene codificante para a proteína 4b.

Técnicas de biologia molecular possuem elevada especificidade e sensibilidade para detecção de APVs (FATUNMBI et al., 1995).

O gene codificante para proteína do núcleo viral 4b possui 1976 bp (pares de bases) e é usualmente utilizado como alvo para diagnóstico devido ao seu alto grau de conservação entre as espécies do gênero. O par de primers P4b (LEE & LEE, 1997) amplificam uma porção desse gene, gerando para todas as espécies do gênero um fragmento de 578 bp (LÜSCHOW et al., 2004).

## 2.7 Prevenção e Controle

As principais formas de prevenção e controle da Boubá Aviária são feitas através da vacinação. Atualmente, existem dois diferentes tipos de vacina disponíveis no mercado: a vacina de *Pigeonpox virus* (vírus isolado de pombos), a qual é composta pelo vírus vivo sem atenuação, sendo utilizada para a vacinação de galinhas e perus, pois nessas espécies esse vírus é naturalmente menos virulento. E a vacina de *Fowlpox virus*, que é produzida a partir da inoculação do vírus na membrana corioalantoide de ovos embrionados SPF ou através da passagem do vírus em cultivo celular, levando à atenuação viral (ALEHEGN & CHANIE & MENGESHA, 2014; TRIPATHY & REED, 2020).

Embora a vacinação possa ser realizada em aves de qualquer idade, é recomendada a utilização de vacinas vivas apenas em animais com idade igual ou superior a quatro semanas ou até duas semanas antes do início da produção, no caso de poedeiras. Se o período de permanência em produção for superior a um ano a revacinação é recomendada. A vacina atenuada não possui tantas restrições, podendo ser utilizada em aves de um dia de idade. Ainda, a vacinação pode ser feita “*in ovo*” no décimo oitavo dia de incubação (RAJA, 2019; TRIPATHY & REED, 2020).

O controle da disseminação do vírus no ambiente torna-se difícil, uma vez que o poxvírus aviário demonstrou-se resistente a produtos químicos como éter, clorofórmio e fenol, sendo inativado com potássio cáustico ou através de calor a temperaturas de 50°C por trinta minutos ou 60°C por oito minutos (ANDREWES, 1978). Em crostas secas no ambiente, o vírus pode sobreviver por meses ou anos (TRIPATHY & REED, 2020).



### **3 Artigo**

#### **Identification of Clade E *Avipoxvirus* in Brazil**

Leonardo Clasen Ribeiro, Francielle Liz Monteiro, Domitila Brzoskowski Chagas,  
Gilberto D'Ávila Vargas, Marcelo de Lima, Geferson Fischer, Silvia de Oliveira  
Hübner

Aceito publicado na revista Avian Diseases  
ISSN: 0005-2086, Qualis A3, Fator de Impacto: 1.328

#### **4 Considerações Finais**

De acordo com o resultado encontrado neste trabalho, demonstra-se a presença do APV entre aves de fundo de quintal na região sul do Rio Grande do Sul, corroborando com o descrito por outros autores em trabalhos similares no país. Após o sequenciamento e análise filogenética do vírus causador da infecção, ele foi classificado como pertencente ao clado E, grupo que nunca havia sido descrito no Brasil. Esse resultado demonstra a necessidade de mais estudos epidemiológicos e moleculares a respeito do vírus causador da Boubá Aviária no Brasil, com o intuito de melhorar o entendimento sobre a doença e prever possíveis consequências a avicultura brasileira, uma vez que os vírus desse clado são conhecidos por causar a enfermidade mesmo em aves vacinadas. Além disso, a avifauna também é motivo de preocupação, visto que ainda não foram realizados estudos sobre a gama de hospedeiros afetados por vírus do clado E.

## Referências

- ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual da Associação Brasileira de Proteína Animal**, 2018. Disponível em: <http://abpa-br.com.br>. Acesso em: 06 jan 2020.
- AFONSO, C. L. et al. The genome of fowlpox virus. **Journal of Virology**, v. 74, n. 8, p. 3815-3831, 2000.
- AKANBI, O. B.; RIMFA, A. G.; OKEWALE, P. A. Comparative study on diphtheritic, cutaneous and systemic forms of natural avipoxvirus infection in chickens. **Journal World's Poultry Research**, v. 6, n. 3, p. 117-120, 2016.
- ALEHEGN, E.; CHANIE, M.; MENGESHA, D. A systematic review of serological and clinicopathological features and associated risk factors of avian pox. **British Journal of Poultry Sciences**, v. 3, p. 78-87, 2014.
- ANDREWES, C. et al. **Viruses of vertebrates**. Bailliere Tindall, 35 Red Lion Square, London, 1978.
- ANLEU, B. I. E. et al. Posible incidencia de viruela u otro patógeno de aves en Guatemala. **Revista Mexicana de Ornitología**, v. 20, n. 2, p. 1-6, 2019.
- ÁVILA-REYES, V. A. et al. Outbreak of Systemic Avian Pox in Canaries (*Serinus canaria domestica*) Associated with the B1 Subgroup of Avian Pox Viruses. **Avian Diseases**, v. 63, n. 3, p. 525-530, 2019.
- BÁNYAI, K. et al. Unique genomic organization of a novel Avipoxvirus detected in turkey (*Meleagris gallopavo*). **Infection, Genetics and Evolution**, v. 35, p. 221-229, 2015.
- BINNS, M. M. et al. Analysis of the fowlpoxvirus gene encoding the 4b core polypeptide and demonstration that it possesses efficient promoter sequences. **Virology**, v. 170, n. 1, p. 288-291, 1989.
- BOULANGER, D.; SMITH, T.; SKINNER, M. A. Morphogenesis and release of fowlpox virus. **Journal of General Virology**, v. 81, n. 3, p. 675-687, 2000.
- CARULEI, O. **Genetic and phenotypic analysis of novel South African Avian poxviruses**. 2018. 158 f. Thesis of Doctor of Philosophy in the Division of Medical Virology. Faculty of Health Sciences, University of Cape Town.
- DEVLIN, Joanne M. et al. Impacts of poultry vaccination on viruses of wild bird. **Current opinion in virology**, v. 19, p. 23-29, 2016.

ELEAZER, T. H.; HARRELL, J. S.; BLALOCK, H. G. Transmission studies involving a wet fowl pox isolate. **Avian Diseases**, v. 27, n. 2, p. 542-544, 1983.

FATUNMBI, O. O. et al. Dual infection of chickens with pox and infectious laryngotracheitis (ILT) confirmed with specific pox and ILT DNA dot-blot hybridization assays. **Avian Diseases**, v. 39, n. 4, p. 925-930, 1995.

FERREIRA, B. C. et al. Outbreak of cutaneous form of avian poxvirus disease in previously pox-vaccinated commercial turkeys. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 417-424, 2018.

GHALYANCHILANGEROUDI, A.; HOSSEINI, H.; MORSHED, R. Molecular characterization and phylogenetic analysis of avian pox virus isolated from pet birds and commercial flocks, in Iran. **Slovenian Veterinary Research**, v. 55, n. 4, 2018.

GHILDYAL, N.; SCHNITZLEIN, W. M.; TRINATHY, D. N. Genetic and antigenic differences between fowlpox and quailpox viruses. **Archives of Virology**, v. 106, n. 1-2, p. 85-92, 1989.

GIERAK, A.; BOCIAN, Ł.; ŚMIETANKA, K. Risk assessment of high pathogenicity avian influenza virus introduction into Poland via legal importation of live poultry. **Avian Diseases**, v. 60, n. 1s, p. 178-182, 2015.

GIOTIS, E. S.; SKINNER, M. A. Spotlight on avian pathology: Fowlpox virus. **Avian Pathology**, v. 48, n. 2, p. 87-90, 2019.

GODOY, L. A. et al. Characterization of avian poxvirus in Anna's hummingbird (*Calypte anna*) in California, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 49, n. 4, p. 978-985, 2013.

GYURANECZ, M. et al. Worldwide phylogenetic relationship of avian poxviruses. **Journal of Virology**, v. 87, n. 9, p. 4938-4951, 2013.

HENRIQUES, A. M. et al. Avian poxvirus infection in a flamingo (*Phoenicopterus ruber*) of the Lisbon Zoo. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 47, n. 1, p. 161-174, 2016.

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses. **Virus taxonomy: 2018 release**. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org>. Acesso em: 06 jan 2020.

JARMIN, S. et al. Avipoxvirus phylogenetics: identification of a PCR length polymorphism that discriminates between the two major clades. **Journal of General Virology**, v. 87, n. 8, p. 2191-2201, 2006.

KIM, H. et al. The survey on avian pox infections in migratory birds at a stopover site, South Korea. **The Korean Journal of Veterinary Service**, v. 40, n. 2, p. 149-153, 2017

KUNERT-FILHO, H. C. et al. First phylogenetic analysis of Avipoxvirus (APV) in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 5, p. 357-362, 2016.

LE LOC'H, G.; BERTAGNOLI, S.; DUCATEZ, M. F. Time scale evolution of avipoxviruses. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 35, p. 75-81, 2015.

LEBDAH, M. A.; HASSANIN, O. A.; ALI, A. M. I. Avipoxvirus in Egypt and African continent: A review. **Zagazig Veterinary Journal**, v. 47, n. 4, p. 364-377, 2019.

LEE, L. H.; LEE, K. H. Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of fowl poxvirus infection. **Journal of Virological Methods**, v. 63, n. 1-2, p. 113-119, 1997.

LIMA, T. F.; BATALLA, J. F. Levantamento da avifauna em fragmentos de Mata Atlântica na Fazenda Santa Rita, Natividade da Serra-SP. **Unisanta BioScience**, v. 7, n. 2, p. 191-206, 2018.

LO, D. et al. Case report: psittacine pox virus infection in *Agapornis roseicollis*. **Taiwan Veterinary Journal**, v. 43, n. 02, p. 85-88, 2017.

LOC'H, L. et al. low impact of avian Pox on captive-Bred houbara Bustard Breeding Performance. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 12, 2017.

LÜSCHOW, D.; HOFFMANN, T.; HAFEZ, H. M. Differentiation of avian poxvirus strains on the basis of nucleotide sequences of 4b gene fragment. **Avian Diseases**, v. 48, n. 3, p. 453-462, 2004.

MANAROLLA, G. et al. Molecular biological characterization of avian poxvirus strains isolated from different avian species. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 1-2, p. 1-8, 2010.

MAPACO, L. P. et al. Identification of clade E avipoxvirus, Mozambique, 2016. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 9, p. 1602, 2017.

MAPACO, L. P. et al. Molecular characterization of avipoxviruses circulating in Mozambique, 2016-2018. **Archives of Virology**, v. 163, n. 8, p. 2245-2251, 2018.

MORTON, J. K.; DIETERICH, R. A. Avian pox infection in an American green-winged teal (*Anas crecca carolinensis*) in Alaska. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 15, n. 3, p. 451-453, 1979.

MURER, L. et al. Identification and phylogenetic analysis of clade C Avipoxvirus in a fowlpox outbreak in exotic psittacines in southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 30, n. 6, p. 946-950, 2018.

NIEMEYER, C. et al. Two different avipoxviruses associated with pox disease in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) along the Brazilian coast. **Avian Pathology**, v. 42, n. 6, p. 546-551, 2013.

OFFERMAN, K. et al. Phylogenetic and histological variation in avipoxviruses isolated in South Africa. **The Journal of General Virology**, v. 94, n. Pt 10, p. 2338, 2013.

RAJA P. Fowlpox Virus. In: MALIK, Y. S.; SINGH, R. K.; YADAV, M. P. **Recent Advances in Animal Virology**. Springer: Singapore, 2019. p. 143-160

RAJASEKARAN, R. et al. Molecular detection of integrated reticuloendothelial virus genes in fowlpox virus field isolates and live vaccines of poultry. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 89, n. 4, p. 377-380, 2019.

REDDY, A. P. et al. Contemporary outbreaks of different avipoxviruses in Humboldt penguins of wild animal park Planckendael and in chickens of commercial poultry farms in Belgium. **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift**, v. 86, n. 1, p. 40-46, 2017.

RODRIGUES, W. O. P. et al. Evolução da avicultura de corte no Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 1666-1684, 2014.

SAHU, B. P. et al. The emergence of subclades A1 and A3 avipoxviruses in India. **Transboundary and emerging diseases**, v. 67, n. 2, p. 510-517, 2020.

SCHMIDT, N. S.; SILVA, C. L. da. Pesquisa e Desenvolvimento na Cadeia Produtiva de Frangos de Corte no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 3, p. 467-482, 2018.

SCHNITZLEIN, W. M.; GHILDYAL, N.; TRIPATHY, D. N. A rapid method for identifying the thymidine kinase genes of avipoxviruses. **Journal of Virological Methods**, v. 20, n. 4, p. 341-352, 1988.

SHAIB, H.; BARBOUR, E. Characterization of a canarypox virus from an outbreak among canaries (*Serinus canaria domesticus*) in Lebanon. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p. 932-937, 2018.

STADEN, R. The Staden sequence analysis package. **Molecular Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 233, 1996.

TAMURA, K. et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.

TRIPATHY, D. N.; REED, W. M. Pox. In: SAIF Y. M. **Diseases of Poultry, 14th Edition**. John Wiley & Sons, 2020 p. 364-381.

TULMAN, E. R. et al. The genome of canarypox virus. **Journal of Virology**, v. 78, n. 1, p. 353-366, 2004.

VAN RIPER III, C.; FORRESTER, D. Avian pox. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. **Infectious diseases of wild birds**. John Wiley & Sons, 2007. p. 131-176.

VANDERWERF, E. A.; YOUNG, L. C. Juvenile survival, recruitment, population size, and effects of avian pox virus in Laysan Albatross (*Phoebastria immutabilis*) on Oahu, Hawaii, USA. **The Condor: Ornithological Applications**, v. 118, n. 4, p. 804-814, 2016.

VIANA, D. S.; SANTAMARÍA, L.; FIGUEROLA, J. Migratory birds as global dispersal vectors. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 31, n. 10, p. 763-775, 2016.

YEO, G. et al. Characterization of Fowlpox virus in chickens and bird-biting mosquitoes: a molecular approach to investigating Avipoxvirus transmission. **Journal of General Virology**, v. 100, n. 5, p. 838-850, 2019.

ZHAO, K. et al. Highly pathogenic fowlpox virus in cutaneously infected chickens, China. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 7, p. 1200-1202, 2014.

## **Anexos**



## Anexo - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal

07/01/2020

SEI/UFPEL - 0143594 - Parecer



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

**PARECER N°** 56/2018/CEEA/REITORIA  
**PROCESSO N°** 23110.015778/2018-17  
**INTERESSADO:** SILVIA DE OLIVEIRA HUBNER

Pelotas, 15 de maio de 2018

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Deteção, caracterização molecular e análise filogenética de poxvirus de aves recebidas pelo Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre (NURFS) da UFPEL**” registrada com o n° 23110.015778/2018-17, sob a responsabilidade de - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 07/05/2018.

Finalidade	( X ) Pesquisa ( ) Ensino
Vigência da autorização	01/06/2018 a 10/01/2021
Espécie/linhagem/raça	Aves silvestres/variadas
N° de animais	50
Idade	Variável
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	NURFS-CETAS/UFPEL
N° Sisbio	62837
Método de captura	Serão utilizados animais capturados e encaminhados até o NURFS-CETAS.

Código para cadastro n° CEEA 15778-2018

\_\_\_\_\_  
**M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix**

*Presidente da CEEA*

Documento assinado eletronicamente por ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, Médico Veterinário, em

07/01/2020

SEI/UFPEL - 0143504 - Parecer



15/05/2018, às 10:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0143594** e o código CRC **3680C5ED**.

Referência: Processo nº 23110.015778/2018-17

SEI nº 0143594

Criado por **00246127074**, versão 2 por **00246127074** em 15/05/2018 10:54:50.