

O ectima contagioso (EC) é uma virose aguda que acomete caprinos e ovinos, amplamente disseminada em todo o mundo. No Brasil, onde a ovinocaprinocultura é amplamente praticada para produção de pele, carne e leite, EC tem sido relatado como uma das principais enfermidades infecciosas de caprinos e ovinos. Em certas situações, EC pode ser clinicamente confundido com enfermidades vesiculares, como a febre aftosa, sendo assim necessário um teste laboratorial direto para definição do diagnóstico diferencial, preferencialmente de rápida execução, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), que ainda não tem sido amplamente testada com amostras brasileiras do vírus EC. O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar uma PCR para diagnóstico de EC. O DNA foi extraído de crostas de animais clinicamente afetados por EC e de sobrenadantes de células de córnea fetal caprina (FCC 40) após passagem dessas amostras. A PCR foi realizada empregando-se os oligonucleotídeos iniciadores PPP3 (5'-tac gtg gga agc gcc tcg ct-3') e PPP4 (5'-gcg agt ccg aga aga ata cg-3') que amplificam um produto de 235 pb do gene B2L, da cepa NZ2 do vírus EC. As condições de ciclagem consistiram em incubação inicial a 94° C por três minutos, seguida de 30 ciclos: desnaturação a 94° C por 30 segundos, anelamento a 65° C por 30 segundos, extensão a 72° C por um minuto, 72° C por dez minutos e uma etapa final a 4° C. Foram processadas oito amostras de caprinos e 25 de ovinos, originários dos Estados da Paraíba, Pernambuco, Sergipe e Bahia. De todas as amostras, foi amplificado um fragmento do tamanho esperado. Para confirmação do diagnóstico, doze produtos de amplificação da PCR foram sequenciados. A análise das seqüências através do método de *neighbor-joining*, usando os parâmetros do modelo Tamura 3 de substituição de nucleotídeos com mil replicatas, mostrou que entre o grupo de seqüências analisadas há 99% de similaridade e 67%, quando comparado com outras amostras brasileiras e asiáticas. A significativa divergência com outras amostras indica que é necessária a avaliação de um maior número de amostras de diferentes regiões do País para validar a PCR como teste de diagnóstico. Espera-se que a PCR definitivamente validada possa ser usada para diferenciação de EC da febre aftosa, sobretudo como suporte às ações do Programa Nacional de Prevenção e Erradicação da Febre Aftosa, no qual os caprinos e ovinos são considerados animais sentinelas.

CNPq, Mapa e Facepe.

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Medicina Veterinária, Dom Manuel Medeiros, s/nº
CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil.
E-mail: scastro@dmv.ufrpe.br

²Fundação Oswaldo Cruz, Recife, PE, Brasil.

³Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

⁴Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Lanagro
Recife, PE, Brasil.

Natural co-infection with infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (ihhmv) and infectious myonecrosis virus (imnv) in *litopenaeus vannamei* in northeast Brazil*

Coinfecção natural com o vírus da necrose hipodérmica e hematopoiética infecciosa (VNHVI) e o vírus da mionecrose infecciosa (VMI) em Litopenaeus vannamei no Nordeste do Brasil

Vieira, P.R.N.¹; Teixeira, M.A.¹; Cruz, J.E.F.¹; Branco, I.R.C.²; Costa, F.H.F.³; Rádís-Baptista, G.¹

Cultivation of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) constitutes a growing aquaculture industry in Northeast Brazil. Similar to other animals that are intensively farmed, shrimp experience disease outbreaks, which are a constant threat and cause eventually significant economical losses. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) and infectious myonecrosis virus (IMNV) are prevalent epizootic viral agents in Brazil. In a routine monitoring program for the diagnosis of IHHNV and IMNV, using molecular techniques like conventional PCR, reverse transcription coupled with PCR (RT-PCR) and absolute quantitative real time PCR (qPCR), we found that most positive samples of shrimp were simultaneously co-infected with both viruses. This survey is the first to show the occurrence of a natural co-infection that is caused by IHHNV and IMNV in penaeid shrimp attacked by viral disease that were cultivated in Northeast Brazil. Taken together, RT-PCR can be readily employed in the routine diagnostic screening program for shrimp viruses in the aquaculture industry. Moreover, in combination with qPCR, diagnosis of the viral load and co-infection can be absolutely assessed and the data used to assist differential management plans for epizootic control.

*Research supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Ministry of Science and Technology (National Program for Animal Health; grant #578460/08-4).

‡All supported by fellowships for Technological and Industrial Development (DTI-3) from CNPq.

¹Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar
Av. da Abolição 3207, CEP 60165-081, Fortaleza, CE, Brasil.
E-mail: gandhi.radis@ufc.br

²Associação dos Criadores Cearenses de Camarão, Fortaleza, CE, Brasil.

³Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia de Pesca,
Fortaleza, CE, Brasil.

Differential diagnosis of active hypodermal and hematopoietic necrosis virus based on gene choice and reverse transcription coupled with PCR*

Diagnóstico diferencial do vírus da necrose hipodérmica e hematopoiética na forma ativa com base na escolha do gene e transcrição reversa por meio de PCR

Teixeira, M.A.¹; Cruz, J.E.F.¹; Vieira, P.R.N.¹; Branco, I.R.C.²; Costa, F.H.F.³; Rádís-Baptista, G.¹

The Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Penaeidae) is one of the most important cultivated species in world aquaculture. In Brazil, the Northeastern states are home to the main shrimp producers. As shrimp aquaculture has expanded and intensified, diseases have progressively become one of the most serious threats to this industry. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) is an enzootic viral agent in Brazilian shrimp farms. These viruses are usually diagnosed by histological methods. However, to detect sub-clinical or acute IHHNV infection, more refined methods based on molecular techniques have been utilized. We found that by using “universal” primers and a single-step PCR diagnostic test, it was difficult to distinguish between non-infective forms of the virus and active IHHNV. Detection of IHHNV was more accurate when we used two alternative molecular strategies, namely 1) single-step PCR amplification based on gene choice and 2) reverse transcription coupled with PCR. This communication presents the results of