

Bióloga avança na caracterização genética de vírus encontrado em animais e humanos

Estudo sobre ação do PBV obtém seqüências inéditas na literatura

JEVERSON BARBIERI
jeverson@unicamp.br

Pesquisa conduzida pela bióloga Maria Clara Duarte Fregolente é responsável por um avanço significativo na caracterização genética do picobimavírus (PBV), detectado em amostras fecais de diferentes hospedeiros como cachorros, cavalos, coelhos, roedores e cobras. O fato de existir uma semelhança entre PBV encontrado em animais e humanos acende uma “luz amarela” no que diz respeito a possíveis casos de zoonose – doenças transmissíveis do animal para o homem. A transmissão se dá por via fecal-oral, portanto trata-se de um vírus entérico, que é eliminado e detectado nas fezes e que tem penetração pela boca. “Se a pessoa tiver contato manual com as fezes de animais infectados e não fizer a higiene correta, pode ter os vírus introduzidos em seu organismo”, afirmou a bióloga.

Identificado pela primeira vez em estudos realizados para a detecção de rotavírus em fezes de crianças, o PBV é um patógeno que, aparentemente, não possui uma associação com a diarreia. No entanto, em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes HIV-positivos ou transplantados, essa associação fica mais evidente. “O que parece é que o PBV é um patógeno oportunista, porque se está presente e associado com outros agentes e/ou fatores pode agravar o quadro de diarreia. Porém, sozinho, não compromete”, garantiu a bióloga. Por isso, alertou, o cuidado com a higiene é fundamental, já que os estudos ainda estão em fase inicial e não existem vacinas tampouco medicamentos antivirais específicos. O trabalho resultou na tese de doutorado de Fregolente, orientada pela professora Maria Silvia Viccari Gatti, do Instituto de Biologia (IB) da Unicamp.

A ligação da pesquisadora com o PBV surgiu ainda na graduação, na iniciação científica, quando também trabalhou com cultura de células para produção de rotavírus e adenovírus. O que era para ser mestrado passou direto para o doutorado e, num primeiro momento, o objetivo foi fazer o sequenciamento completo do PBV. Trata-se de uma espécie que tem genoma de RNA dupla-fita com dois segmentos.

A pesquisadora chamou a atenção para o fato de que apenas PBV de humanos têm seus segmentos genômicos com sequenciamento completo publicado na literatura. A partir daí – e pelo fato de o laboratório ter muitas amostras de animais – surgiu o interesse de fazer o sequenciamento dos segmentos genômicos e comparar as seqüências de nucleotídeos de PBV de humanos e animais. Porém, vários protocolos foram testados e nenhum deles permitiu obter



Foto: Antoninho Perri

as seqüências completas. “Conseguimos seqüências menores, de 200 pares de bases de um dos segmentos e a análise foi feita a partir dessa informação”, disse.

Mesmo não obtendo o sequenciamento completo, a pesquisadora comentou que os resultados obtidos foram não só importantes como também muito interessantes. Ela ressaltou que encontrou uma variação na seqüência de nucleotídeos dos PBV muito grande e em alguns animais foi constatado que estavam sendo infectados por dois tipos diferentes de PBV. “São tão diferentes que fica difícil a comparação entre eles”, reforçou.

Existem, de acordo com Fregolente, poucas seqüências totais disponíveis em bancos de dados sobre PBV. Para ampliar essa quantidade é necessário ter uma seqüência base e, a partir dela, desenhar os iniciadores. Porém, como se trata de um vírus RNA, é preciso antes fazer uma transcrição reversa, transformando-o em DNA. A bióloga explicou que a partir das seqüências disponíveis não foi possível estabelecer nenhum iniciador capaz de funcionar nas seqüências de PBV de animais. Isso porque a informação existente nos bancos de dados é de PBV de humanos

A pesquisadora Maria Clara Duarte Fregolente: desafio agora é sequenciar segmento que codifica as proteínas externas

e pode existir alguma diferença para o PBV de animal que impeça o alinhamento correto do iniciador nas seqüências. “Como existe muita diversidade, isso é possível. As técnicas que estão disponíveis na literatura eu não consigo fazer funcionar”, lamentou. Além disso, é bem possível que, pelo fato da amostra ficar armazenada por muito tempo, ocorra a degradação do RNA.

A bióloga esclareceu ainda que a seqüência que todos os pesquisadores conseguem amplificar – e na qual ela baseou seu estudo – é de uma enzima do vírus. O desafio está agora em sequenciar o outro segmento que codifica as proteínas externas, que formam o capsídeo viral. “Os anticorpos que os animais produzem são exatamente contra essa proteína que fica exposta. Conhecer a seqüência da proteína externa será muito importante para obter novas informações”, advertiu.

Contribuição acadêmica

Fregolente considera que foi fundamental apresentar novas seqüências de PBV identificados em outros animais e até então inexistentes na literatura. “É importante disponibilizar esses

dados já que são poucos os grupos que trabalham com esses agentes que têm despertado interesse para estudos em outros continentes, recentemente” disse. Ela ressaltou ainda que o Comitê Internacional de Taxonomia Viral aceitou a proposição para um sistema de classificação para o PBV, enquanto família, gênero e espécie. No entanto, as espécies tipo existentes são apenas PBV de humanos e de coelhos, porque foram os primeiros a serem sequenciados.

Além da classificação até o nível de espécie, os PBV também são classificados em genogrupos, o que é considerado inadequado pela pesquisadora. Para se fazer uma classificação correta é importante que se tenha uma maneira de conseguir detectar todos os tipos de PBV por métodos de biologia molecular e, a partir do sequenciamento, poder separar as diferenças e as igualdades visando montar um sistema de classificação mais eficiente.

“Sugerimos também a existência de quasiespécies, que é um fenômeno natural que ocorre em vírus de RNA, especificamente”, disse a bióloga. Trata-se de um momento da evolução dos vírus, no qual eles produzem diferentes mutantes para conseguir se estabelecer. Todas as possíveis mutações são realizadas pelo vírus até que ele encontre aquela que melhor se adapte ao meio. Fregolente revelou que foram encontradas essas mutações de ponto em cada uma das seqüências analisadas. “Isso caracteriza variados genomas dentro de uma única população viral”, concluiu.

Artigos

- Molecular characterization of picobimaviruses from new hosts., Fregolente MC, de Castro-Dias E, Martins SS, Spilki FR, Allegretti SM, Gatti MS., Virus Res. 2009 Jul;143(1):134-6.
- Nomenclature proposal for picobimavirus., Fregolente MC, Gatti MS., Arch Virol. 2009;154(12):1953-4.

Publicação

Tese de doutorado “Caracterização genética de picobimavírus detectados em amostras fecais de diferentes hospedeiros”

Autora: Maria Clara Duarte Fregolente
Orientadora: Maria Silvia Viccari Gatti
Unidade: Instituto de Biologia (IB)
Fonte de financiamento: Fapesp

CVV

Ouvimos você com o coração!

Campinas Fone: **3272-7777**

Para anunciar disque:

3327-0894

9606-1303

E-mail: jcppublicidade@uol.com.br

JCPR PUBLICIDADE E PROPAGANDA
Rua: Barão de Atibaia, 773 - Guanabara

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

Reitor Fernando Ferreira Costa
Coordenador-Geral Edgar Salvadori De Decca
Pró-reitor de Desenvolvimento Universitário Paulo Eduardo Moreira Rodrigues da Silva
Pró-reitor de Extensão e Assuntos Comunitários Mohamed Ezz El Din Mostafa Habib
Pró-reitor de Pesquisa Ronaldo Aloise Pilli
Pró-reitor de Pós-Graduação Euclides de Mesquita Neto
Pró-reitor de Graduação Marcelo Knobel
Chefe de Gabinete José Ranali

Jornal da Unicamp

Elaborado pela Assessoria de Imprensa da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Periodicidade semanal. **Correspondência e sugestões** Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, CEP 13081-970, Campinas-SP. **Telefones** (019) 3521-5108, 3521-5109, 3521-5111. **Site** http://www.unicamp.br/ju. **E-mail** leitorju@reitoria.unicamp.br. **Twitter** http://twitter.com/jornaldaunicamp **Coordenador de imprensa** Eustáquio Gomes **Assessor** **Chefe** Clayton Levy **Editor** Álvaro Kassab (kassab@reitoria.unicamp.br) **Chefia de reportagem** Raquel do Carmo Santos (kel@unicamp.br) **Reportagem** Isabel Gardenal, Jeverson Barbieri e Maria Alice da Cruz **Editor de fotografia** Antoninho Perri **Fotos** Antoninho Perri e Antonio Scarpinetti **Editor de Arte** Oséas de Magalhães **Vida Acadêmica** Hélio Costa Júnior **Atendimento à imprensa** Nadir Antonia Peinado, Ronei Thezolin e Sílvia Anunciação **Serviços técnicos** Dulcinea Bordignon, Everaldo Silva e Luis Paulo Silva **Impressão** Pigma Gráfica e Editora Ltda. (011) 4223-5911 **Publicidade** JCPR Publicidade e Propaganda: (019) 3232-2210. Assine o jornal on line: www.unicamp.br/assineju