

DETECÇÃO DE VÍRUS COM GENOMA BISSEGMENTADO (PICOBIRNAVIRUS) EM AMOSTRAS DE FEZES DE BEZERROS.

Juliana Varella Pontes, Maria da Gloria Buzinaro. – Inter-áreas - Medicina Veterinária – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal.

O Picobirnavirus (PBV) foi descrito pela primeira vez por Pereira et al. (1988) quando esses pesquisadores detectaram, por eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE), duas bandas de ácido ribonucléico de cadeia dupla e bissegmentado em fezes humanas. Posteriormente, outros pesquisadores, tentando diagnosticar rotavírus em aves (Alfieri et al., 1988; Monteiro et al., 1991) e suínos (Gatti et al., 1989) obtiveram resultados semelhantes aos encontrados por Pereira et al. O PBV também foi identificado em outras espécies como ratos e cobaias (Pereira et al., 1988, 1989), coelhos (Gallimore et al., 1993) e eqüinos (Browning et al., 1991). Os estudos de microscopia eletrônica revelaram partículas virais de aproximadamente 35nm de diâmetro, simetria icosaédrica, capsídio simples, sem envoltórios, e que cossedimentam em gradiente de cloreto de cério em densidade ao redor de 1,40g/ml. Em bovinos, o PBV foi descrito por Vanopdenbosch & Wellemans (1989), causando surtos de diarreia e estava associado a outros agentes infecciosos como coronavírus, rotavírus e cryptosporidium. Com relação a patogenicidade deste novo grupo de vírus não há dados conclusivos sobre uma possível relação entre o diagnóstico do PBV e a caracterização de um processo diarreico. Porém, os PBV têm sido incluídos em estudos epidemiológicos sobre agentes virais causadores de gastroenterites, podendo, ainda, potencializar os sinais clínicos de infecção por rotavírus, agravando o quadro clínico.

Neste estudo, foram colhidas 126 amostras de fezes de bezerros, com idade entre 1 e 45 dias, em nove propriedades de gado bovino leiteiro e de corte, situadas no Estado de São Paulo. Do total de amostras colhidas, 45 pertenciam a animais com quadro clínico de diarreia e 77 foram obtidas de animais clinicamente saudáveis. Amostras de fezes foram consideradas diarreicas quando apresentavam consistência líquida, enquanto fezes de consistência firme ou pastosa foram consideradas não diarreicas. No presente trabalho é relatada a detecção de partículas virais com genoma bissegmentado em amostra de fezes de bezerro sem diarreia. A detecção da amostra positiva para Picobirnavirus seguiu-se utilizando o mesmo protocolo de extração do genoma de rotavírus. Suspensão de fezes a 10% em tampão Tris/Ca++ (100mM Tris, 1,5mM CaCl₂, pH 7,4) foram clarificadas a centrifugação (3000 RPM por 15 minutos). Alíquotas desta suspensão foram incubadas com 1% de sódio dodecil sulfato (SDS) por 30 minutos a 37°C. Após extração com fenol/clorofórmio o ácido nucléico foi precipitado com etanol (Herring, et al., 1982). A eletroforese foi realizada em gel de poliacrilamida a 7,5%, Tampão Tris/Glicina (Tris 0,025M; Glicina 0,109M, pH 8,3), e uma corrente de 18mA, durante 2 horas. O processo de coloração com nitrato de prata foi realizado de acordo com Herring et al. (1982).

Das 126 amostras analisadas 8 (oito) foram positivas para rotavírus do grupo A, enquanto uma amostra apresentou genoma bissegmentado, cujas bandas encontravam-se entre os segmentos 3 e 5 quando comparados com os segmentos do rotavírus (figura 1) e, o tamanho dos segmentos foi estimado em 2600 e 1600 kpb para os segmentos maior e menor, respectivamente

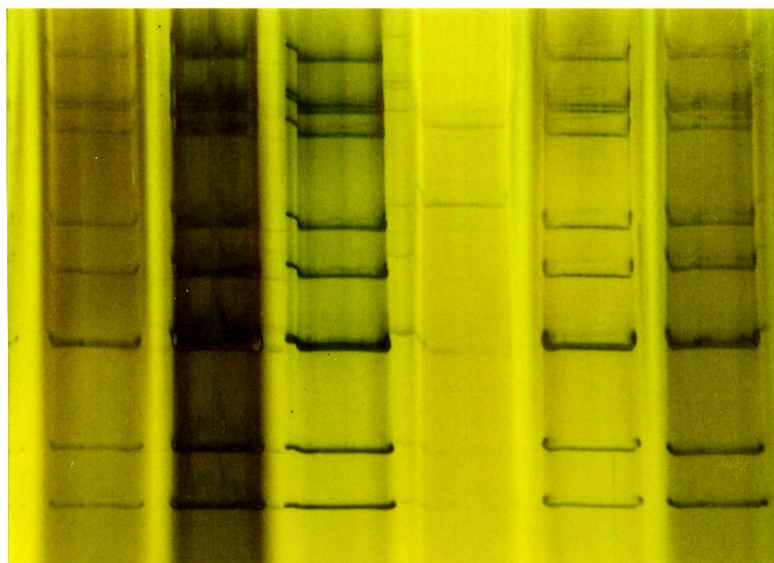


Figura 1: Perfil eletroforético de RNA fita dupla (dsRNA) extraído de amostras de fezes de bezerros. 1, 2, 3 e 5 – Perfil dsRNA de amostras de rotavírus; 4 – dsRNA de picobirnavirus; 6 – dsRNA de amostras padrão NCDV (Nebraska Calf Diarrhea Vírus).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A.; RESENDE, J.S.; RESENDE, N.A. **A Novel Bisegmented Double-stranded RNA Vírus in Avian Faeces.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., n. 40, p. 437-440, 1988.

BROWNING, G.F.; CHALMERS, R.M.; SNODGRASS, D.R.; BATT, R.M.; HART, C.O.; ORMAROD, S.E.; LEADON, D.; STONEHAM, S.J.; ROSSDALE, P.D. **The Prevalence of Enteric Pathogens in Dirrhoeic thoroughbred Foals in Britain and Ireland.** Equine Vet. J., n. 23, p. 405-409, 1991.

GALLIMORE, C.I.; LEWIS, D.; BROWN, D.W.G. **Detection and Characterization of a Novel Bisegmented Double-stranded RNA Virus (picobirnavirus) from Rabbit faeces.** Arch. Virol., n. 133, p.63-73, 1993.

GATTI, M.S.V.; PESTANA DE CASTRO, A.F.; FERRAZ, M.M.G.; FIALHO, AM.; PEREIRA, H.G. **Viruses with Bisegmented Double-stranded RNA in Pig Faeces.** Res. Vet. Sci., n.47, p. 397-398, 1989.

HERRING, A.J.; INGLIS, N.F.; OJEH, C.K.; SNODGRASS, D.R.; MENZIES, J.D. **Rapid Diagnosis of Rotavirus Infection by Direct Detection of Viral Nucleic Acid in Silver-stained Polyacrylamide Gels.** J. Clin. Microbiol., v.16, n.3, p.473-477,1982.

MONTEIRO, S.G.; PEREIRA, H.G.; FIALHO, A.M.; LEITE, J.P.G. **Virus with Segmented Double-stranded RNA Genomes in Chickens.** Arq. Bras. Med. Vet. Zoot., n.42, p.141-146,1991.

PEREIRA, H.G.; FIALHO, A.M.; FLEWETT, T.H.; TEIXEIRA, J.M.S.; ANDRADE, Z.P. **Novel Vírus in Human Faeces.** Lancet, n.2, p. 102-104, 1988.

PEREIRA, H.G.; FLEWETT, T.H.; CANDEIAS, J.A.N.; BARTH,O.M. **Virus with Bisegmented Double-stranded RNA in Rat Faeces.** J. Gen. Virol., n. 69, p. 2749-2754, 1988.

PEREIRA, H.G.; ARAÚJO, H.P.; FIALHO, A.M.; CASTRO, L.;MONTEIRO, S.P. **A Vírus with Bi-segmented Double-stranded RNA Genome in Guinea Pig Intestines.** Mem Inst. Oswaldo Cruz., n. 84, p. 137-140,1989.

VANOPDENBOSCH, E.; WELLEMANS, G. **Birna-type Virus in Diarrhoeic Calf Faeces.** Ret. Rec., n.125, v.24, p.610, 1989.