

Utilização de EGPA para identificação de RNAdf viral em fezes de roedores silvestres (Rodentia) e marsupiais (Didelphimorphia).

Iago O. de Mello*, Roberta Paresque¹, Rogério M. do V. Barroso², Debora de Meneses Souza³, Déborah J. Rodrigues, Fernando Vicentini¹

- * Estudante de Farmácia-Bach. da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES; *i.agomello@hotmail.com
 1. Professor do Depto. de Ciências da Saúde Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, São Mateus/ES;
 2. Coordenador do curso de Medicina Veterinária ... ESESFA, Santa Teresa/ES;
 3. Estudante de Ciências Biológicas -Bach. da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, São Mateus/ES;

Palavras Chave: EGPA, RNA dupla fita, animais selvagens, rotavírus e picobirnavírus..

Introdução

A eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA) é amplamente usada para a separação de biomoléculas, como ácidos ribonucléicos e proteínas. Os géis de poliacrilamida são constituídos pela polimerização da acrilamida e da N,N' – metilenobisacrilamida, e apresentam poros de dimensões moleculares proporcionais à concentração. Assim a separação nessas malhas é baseada tanto nos princípios da filtração em gel como na mobilidade eletroforética das moléculas. Esta técnica é utilizada para a identificação de alguns vírus de RNAdf. Os eletroferótipos característicos de cada gênero permitem a detecção e a identificação viral. Os *Picobirnavirus* (PBV) apresentam perfis eletroforéticos típicos com duas bandas, enquanto os *Rotavirus* (RV) apresentam seu genoma com 11 segmentos. Os RVs pertencem a família *Reoviridae* gênero *Rotavirus* e podem ser divididos em 7 espécies. A partícula viral é não envelopada, com aproximadamente 100 nm de diâmetro e apresenta simetria icosaédrica e constituída por três camadas proteicas concêntricas. Os *Picobirnavirus* (PBV) pertencem à família *Picobirnaviridae*, tendo duas espécies caracterizadas até o momento: *Human picobirnavirus* e *Rabbit picobirnavirus*. São pequenos vírus não envelopados, de aproximadamente 35nm, seu eletroferótipo flutua entre os seis segmentos mais pesados dos *Rotavirus*. Esses vírus tem sido descritos em hospedeiros de diferentes espécies, como aves, mamíferos e répteis e representam importantes agentes zoonóticos. A caracterização molecular tem permitido descrever a relação de espécie-especificidade, assim como, a circulação de determinadas cepas em diferentes espécies. O objetivo deste trabalho foi pesquisar a ocorrência dos PBV e RV em fezes de roedores (animais selvagens), pela detecção do RNAdf típico, através de EGPA. Foram coletadas amostras de espécies diferentes.

Resultados e Discussão

As amostras de fezes dos animais selvagens, foram coletados na Reserva Biológica Córrego do Viado – Pinheiros/ES, e na Reserva Córrego das Mesas – Carolina/MA, por membros desta equipe em outro projeto de pesquisa, que nos cedeu, após identificação das espécies animais. As espécies podem ser identificados na **tabela 1**. Metodologia utilizada na extração do ácido nucleico viral foi realizada a partir da suspensão fecal em Tris/Cálcio, através da técnica com sílica/tiocianato de guanidina (Técnica de Boom, 1990). A eletroforese foi realizada em duas fases, o gel concentrador 3,5% e o separador a 7%, em cuba pequena de 10 centímetros. A corrida eletroforética foi realizada a 15mA, por 150min. A coloração do gel foi realizada pela técnica de impregnação pela prata 0,1M de acordo com Herring et al. (1982) e revelação com NaOH. Perfis eletroforéticos com pesos

moleculares típicos foram considerados como amostras positivas para o ácido nucleico viral, sugerindo infecção do respectivos hospedeiros. Foram coletadas 73 amostras de fezes de diferentes espécies. Foram analisadas 30 amostras. Até o momento bandas sugestivas tem sido encontradas e necessitam confirmação.

Tabela1: Quantidade de cada espécie coletadas de roedores silvestres (Rodentia) e marsupiais (Didelphimorphia)

Espécie	Qunt.
<i>Akodon cursor</i>	12
<i>Akodon montensis</i>	12
<i>Cerradomys subflavus</i>	3
<i>Cerradomyssp.</i>	3
<i>Cryptonanus agricolae</i>	1
<i>Gracilinanus agilis</i>	2
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	2
<i>Marmosa murina</i>	1
<i>Monodelphis sp</i>	1
<i>Necomys lasiurus</i>	5
<i>Oligoryzomys sp.</i>	2
<i>Oxymycterus sp.</i>	1
<i>Proechimys robert</i>	1
<i>Proechimys sp.</i>	16
<i>Rhipidomys sp.</i>	2
<i>Thalpomys sp.</i>	4
<i>Thricomys sp.</i>	2
<i>Thylamys karimii</i>	2
<i>Thylamyssp.</i>	1

Conclusões

Eletroferótipos típicos de PBV e sugestivos de RV foram detectados em 4 e 1 amostras respectivamente. As amostras de fezes pertencem a animais selvagens de 14 gêneros diferentes, o que nos permitirá avaliar a circulação dos vírus estudados entre espécies selvagens habitantes de nichos ecológicos, nos estados do Espírito Santo(ES) e Maranhão(MA), representante de duas regiões geográficas distantes no Brasil. Este é o primeiro estudo de vírus RNAdf em animais das regiões coletadas. A possível caracterização de vírus circulante entre diferentes espécies, tem aplicação na saúde humana e animal, além de promover avanço científico sobre a biologia dos vírus estudados.

Agradecimentos

Agradecer a Deus, a Universidade Federal do Espírito Santo por toda estrutura e a todos colaboradores.