

Jansen de Araujo

**DETECÇÃO MOLECULAR DE HANTAVÍRUS PELA TÉCNICA DE
REAL-TIME PCR EM AMOSTRAS DE ROEDORES SILVESTRES
COLETADAS NA REGIÃO DO VALE DO RIBEIRA
NO ESTADO DE SÃO PAULO**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Microbiologia do Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de Doutor em
Microbiologia.**

**São Paulo
2010**

Jansen de Araujo

**DETECÇÃO MOLECULAR DE HANTAVÍRUS PELA TÉCNICA DE
REAL-TIME PCR EM AMOSTRAS DE ROEDORES SILVESTRES
COLETADAS NA REGIÃO DO VALE DO RIBEIRA
NO ESTADO DE SÃO PAULO**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Microbiologia do Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de Doutor em
Microbiologia.**

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Edison Luiz Durigon

**São Paulo
2010**

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Araujo, Jansen.

Detecção molecular de Hantavírus pela técnica de Real-time PCR em amostras de roedores silvestres coletadas na região do Vale do Ribeira no Estado de São Paulo / Jansen Araujo. -- São Paulo, 2010.

Orientador: Edison Luiz Durigon.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de pesquisa: Virologia clínica e molecular.

Versão do título para o inglês: Molecular detection of Hantavirus by Real-time PCR in wild rodents collected on Vale do Ribeira region, São Paulo state.

Descritores: 1. Hantavírus 2. Roedores silvestres 3. Real-time PCR 4. SYBR Green I. Durigon, Edison Luiz II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós Graduação em Microbiologia III. Título.

ICB/SBIB0164/2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia
Universidade de São Paulo, Instituto Butantan, Instituto de Pesquisas Tecnológicas

Candidato(a): Jansen Araujo.

Título da Tese: Detecção molecular de Hantavírus pela técnica de
Real-time PCR em amostras de roedores silvestres coletadas na
região do Vale do Ribeira no Estado de São Paulo.

Orientador(a): Edison Luiz Durigon.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado(a)

Reprovado(a)

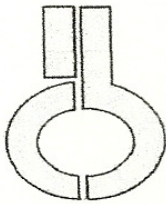
Examinador(a): Assinatura:.....
Nome:
Instituição:.....

Examinador(a): Assinatura:
Nome:.....
Instituição:.....

Examinador(a): Assinatura:.....
Nome:.....
Instituição:.....

Examinador(a): Assinatura:.....
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:.....
Nome:.....
Instituição:



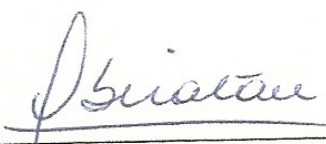
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 – telefax : (55) (011) 3091.7438
e-mail: cep@icb.usp.br

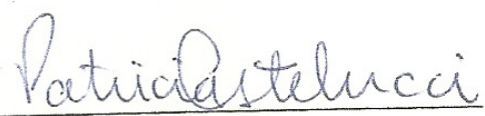
CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **088** nas fls. **34** do livro **2** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade de Edison Luiz Durigon, Coordenador(a) da Linha de pesquisa "**Detecção molecular de Hantavírus pela técnica de real-time PCR em amostras de roedores silvestres coletadas na região do Vale do Ribeira no Estado de São Paulo**" do qual participou(aram) o(s) alunos **Jansen de Araújo**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)** em **21.11.2006**.

São Paulo, 22 de novembro de 2006.



Prof. Dr. UBIRATAN FABRES MACHADO
Coordenador da CEEA - ICB/USP



Profa. Dra. PATRÍCIA CASTELUCCI
Secretária da CEEA - ICB/USP

Em especial a toda minha família (pai Araujo, minha mãe Roseli, minhas irmãs Janine e Janiele, a minha futura esposa Tatiana, por acreditarem no meu potencial, pelo carinho e pelo incentivo de sempre.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

Aos meus familiares, especialmente minha mãe Roseli Capuccini de Araujo, pela vida, pelo apoio e pela força nos momentos difíceis.

Ao meu Pai, Hioshijiro Araki de Araujo, pelo exemplo de seriedade em que me ensinou a conduzir a vida, e responsabilidade no trabalho.

As minhas duas irmãs Janine e Janiele, que me apoiaram em todas minhas decisões e sempre torceram pelo meu sucesso.

Aos meus queridos amigos, que nos momentos fora do trabalho, nos *happy hours*, sempre me orientaram sobre decisões e postura no rumo certo a seguir, com conselhos sempre pertinentes.

Ao médico veterinário Dr. Dalmir Ometto, meu sogro, por me acolher como um filho durante todo este período, e pelo grande amigo que conquistei.

Agradecimento especial a nossa equipe de campo (a infantaria), que contribuiu diretamente na execução deste trabalho, criada no Laboratório de Virologia clínica e Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas da USP: Luciano M. Thomazelli, Carolina S. Ferreira, Renata Ferreira Hurtado, Tatiana Lopes Ometto, Felipe Alves Morais, Luiz Francisco Sanfilippo, José Maria Lopes.

Ao Marcello Schiavo Nardi, do laboratório de Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses FMVZ-USP, pela colaboração nos trabalhos de campo, capturas e em especial pela amizade.

Alessandra Nava, consultora Senior da *EcoHealth Alliance* pela amizade e principalmente no trabalho em parceria no desenvolvimento de projetos em colaboração.

Ao Ricardo Siqueira Bovendorp, Ecólogo do Laboratório de Ecologia Animal, Depto de Ciências Biológicas, ESALQ- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP e Roberto Haddad do Instituto de Pesquisas Ecológicas- IPÊ pelo auxílio na identificação dos animais capturados.

A Caroline C. Aires do LABEC - USP/MZUSP- Museu de Zoologia da USP e Sandra Favorito da Universidade Bandeirantes de São Paulo (UNIBAN) pelo auxílio

na coleta e identificação dos roedores silvestres na região de Biritiba Mirim e Salesópolis.

A equipe do laboratório BSL3: Dyana Alves Henriques, Tatiana L. Ometto, Fabio C. Maués, Lilia M. Dutra, Mário Luis Figueiredo e Daniele A. Lautenschlager e a equipe do laboratório BSL2: Raquel Negrão, Daniele Bruna, Camila e Priscila.

A todos os amigos do Laboratório de Virologia – USP: Eduardo Salustino, Lilian Keller, Andréa, Angélica, Ariane, César, Danila, Maria Paula, Cláudia, Gustavo, Jean, Larissa, Patrícia, Teca.

A Dr. Vivi, Dr. Silvana e Dr. Malu pelo apoio sempre que requisitada e pela amizade.

Aos amigos do Departamento de Microbiologia, Liliana, Tatiana, Solange, Cassiano, Ricardo, Juliana, Fernanda, Jô, Camila, “Frank”, Carla e Áthila, pelo apoio de sempre.

Aos técnicos do departamento Jacinta, Fabiana, Telma e José, pelo apoio sempre.

Aos Profs. de Virologia Dr. Dolores, Charlotte, Paolo e Maria Lúcia pelos ensinamentos durante todo esse período.

Aos Profs. Dr. Manoel Armando Azevedo dos Santos, Benedito Corrêa e Flávio Alterthum, a qual eu tenho orgulho de ter conhecido, além da amizade e orientações na área de microbiologia.

Aos funcionários do ICB: Alice, Aninha e Naíde pelo apoio na secretária e esclarecimentos.

Ao Instituto Biológico que através do Dr. Marcelo Eiras, despertou meu interesse pela área de virologia e aos amigos no qual não esqueço: Marina Reiter, Alexandre Chaves, Lígia, Dora, Eliana, Silvia, Maria Amélia, Fernando, Desiré, Carol e Jéssica.

Ao Prof. Dr. Sang How Han do Centro Interdisciplinar de Terapia Gênica (CINTERGEN/UNIFESP) que depositou sua confiança em meu trabalho na execução do projeto Viral Genetic Diversity Network (VGDN) onde aprendi muito e conheci pessoas incríveis como a Priscila, Chester, Mariana, DaniTak, Mari e Mariana Grings.

Ao Ph. D Paul A. Rota, responsável pelo laboratório de *Measles, Mumps, Rubella and Herpes Viruses Branch, Division of Viral Diseases, no Centers For*

Disease Control and Prevention- CDC, por ter me recebido muito bem em seu laboratório e ter colaborado com a parte científica deste trabalho.

Ao Ph. D Michael K. Lo do *Measles, Mumps, Rubella and Herpes Viruses Laboratory Branch* no *Centers For Disease Control and Prevention- CDC*, pela ajuda na parte laboratorial e pela amizade durante minha breve estadia em Atlanta.

Ao Dr. Christopher C. Broder, do *Microbiology and Immunology of Emerging Infectious Diseases program* da *Uniformed Services University- USU* em Washington, pela oportunidade em seu laboratório de pesquisa no programa de vírus emergentes.

A Dawn Weir no *USUHS Emerging Infectious Diseases Graduate Program* *Uniformed Services University of the Health Sciences Bethesda*, pela amizade e auxílio nos experimentos laboratoriais em Washington.

Ao Alexandre Pereira do Instituto Butantã pela apoio e realização dos testes sorológicos em roedores.

A pesquisadora Ana Íris da FUNED, (Fundação Ezequiel Dias) localizada em Minas Gerais pela colaboração no envio de amostras para análise molecular de pacientes com sorologia positiva para hantavirus.

Ao Instituto de Pesquisas Ecológicas- IPÊ, por ceder gentilmente a base de apoio para os locais de coleta em Teodoro Sampaio e Nazaré Paulista.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edison Luiz Durigon, que me concedeu esta oportunidade na área de virologia, no qual tive boas experiências, e mudanças de atitudes. Aprendi com ele em como ser paciente ao resolver problemas, além de ter conquistado um grande amigo.

A FAPESP pelo apoio financeiro concedido, durante todo o período de pesquisa científica, incluindo a bolsa de doutorado.

E por fim, agradeço a minha futura e amada esposa Tatiana Lopes Ometto de Araujo pelo apoio, incentivo, carinho, amor e principalmente pela paciência. Minha companheira que nos momentos mais difíceis sempre esteve do meu lado durante todo este trajeto.

**A pesquisa é como a cachaça,
quando você percebe o mistério
e a pureza que existe dentro dela,
não consegue parar mais.**

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

