

RITA DE CÁSSIA COMPAGNOLI CARMONA

**DIVERSIDADE GENÉTICA DOS ROTAVÍRUS HUMANOS DETECTADOS EM
PACIENTES COM DIARRÉIA AGUDA NO ESTADO DE SÃO PAULO, NO PERÍODO
DE 1996 A 2006**

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

SÃO PAULO
2010

RITA DE CÁSSIA COMPAGNOLI CARMONA

**DIVERSIDADE GENÉTICA DOS ROTAVÍRUS HUMANOS DETECTADOS EM
PACIENTES COM DIARRÉIA AGUDA NO ESTADO DE SÃO PAULO, NO PERÍODO
DE 1996 A 2006**

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

Área de concentração: Microbiologia
Orientador: Prof. Dr. Leonardo J. Richtzenhain

SÃO PAULO
2010

*Que Deus, Arquiteto do Universo, nos de a capacidade para avaliar nosso sucesso,
por aquilo a que renunciamos para obtê-lo.*

Aos meus pais,
Rita Compagnoli, com amor e respeito e
Cláudio Compagnoli (*in memoriam*), saudade sempre.

Ao meu marido,

Marcos,
amigo e companheiro, pelo amor, carinho, incentivo
e apoio em todos os momentos de minha
vida pessoal e profissional

Aos meus filhos,

Ivan e Alan, razões de minha vida.

Agradeço por me permitirem conhecer o sentimento mais
sublime de todos: **amor materno**.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Leonardo José Richtzenhain, orientador, pelas sugestões, incentivo e confiança plena depositada em meu trabalho. Meu respeito e admiração como profissional e ser humano.

A amiga Maria do Carmo S. T. Timenetsky, pela longa amizade, pelo aprendizado durante minha formação científica e incentivo desse trabalho.

Ao Dr. Yasutaka Hoshino pela orientação e apoio na realização de parte desse trabalho.

Ao Dr. Albert Kapikian, pela oportunidade de desenvolver parte do trabalho.

Ao amigo Mauricio Realpe, pela colaboração nas reações de sequenciamento e análise filogenética.

Ao André Serradas, da Biblioteca do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pela revisão bibliográfica e profissionalismo.

Aos colegas do Núcleo de Doenças Entéricas, Adriana, Antonio, Audrey, Bethânia, Bráulio, Cibele, Cleusa, Creuza, Denise, Samira, Simone e Sirlene.

Aos colegas do Centro de Virologia do Instituto Adolfo Lutz, pela amizade e respeito.

A todos aqueles, que direta ou indiretamente auxiliaram na realização deste trabalho.

O presente trabalho foi desenvolvido no Núcleo de Doenças Entéricas, Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz.

RESUMO

CARMONA, R. C. C. **Diversidade genética dos rotavírus humanos detectados em pacientes com diarreia aguda no Estado de São Paulo, no período de 1996 a 2006.** 2010. 181 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O rotavírus é considerado o principal agente etiológico das gastroenterites graves em crianças em todo o mundo. Em março de 2006, uma vacina contra rotavírus (oral, atenuada, monovalente, P[8]G1, Rotarix® GlaxoSmithKline Biologicals) foi introduzida no Brasil no calendário de rotina de imunização infantil. O estudo da diversidade genética dos rotavírus, antes e após a introdução desta vacina pode ser importante para o desenvolvimento de estratégias de vacinação. Um total de 8.961 amostras fecais coletadas de pacientes com diarreia aguda, durante o período de vigilância de 11 anos no Estado de São Paulo (1996-2006) foi testado para rotavírus por ELISA. Destas, 1.784 (20,0%) foram positivas, e posteriormente a caracterização dos rotavírus em genótipos G e P foi realizada em 1.300 amostras por nested RT-PCR. O genótipo G1 de rotavírus foi o mais freqüente, detectado em 35,2% das amostras, seguido do tipo G9 (31,2%), G2 (4,0%), G3 (3,5%), G4 (2,2%), infecção mista (1,8%) e G12 (0,5%). A associação mais freqüente foi a P [8]G1 e P [8] G9. Foi realizada a sequência nucleotídica do gene 9 (VP7) de 38 rotavirus genótipo G1, selecionados de um total de 341 P[8]G1. Duas cepas foram analisadas de cada ano como 1997, 1998, 2001 e 2002, três cepas do ano 1996, 1999 e 2003, quatro cepas em 2000, sete cepas foram em 2004 e 2005, e cinco em 2006. Os 38 rotavírus G1 neste estudo foram classificados em duas linhagens distintas, linhagem G1-I, com 44,7% (17/38) e linhagem G1-II com 55,3% (21/38). A linhagem G1-I foi detectada durante seis anos, 1996-1997, 2001-2002 e 2004-2006, e a linhagem G1-II foi detectada durante os anos de 1998-2001, e 2003-2005. Análises preliminares mostraram que Rotarix® foi eficiente contra estas linhagens G1.

Palavra-chave: Rotavírus. Diarreia. Genótipos. Diversidade genética. Análise Filogenética. Linhagens. Vacina.

ABSTRACT

CARMONA, R. C. C. **Genetic diversity of Human Rotaviruses detected in patients with acute diarrhea in São Paulo, from 1996 to 2006.** 2010. 181 p. Ph D Thesis (Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Rotavirus (RV) infections are recognized as a major cause of severe gastroenteritis in children worldwide. In March 2006, a monovalente P[8]G1, human RV vaccine (Rotarix[®] GlaxoSmithKline Biologicals) was introduced in Brazil into the routine childhood immunization schedule. Therefore, the study of genetic diversity among rotavirus strains before and after the introduction of this vaccine may be important for the development of vaccination strategies. A total of 8,961 fecal samples collected from patients with acute diarrhea, during the 11-year period surveillance in São Paulo State (1996 to 2006) were tested for rotavirus by ELISA. One thousand seven hundred eighty-four (1,784, 20.0%) were positive, and the characterization of the G and P genotypes was performed on 1,300 rotavirus samples by nested RT-PCR. The G1 type was the most prevalent rotavirus strain (35.2%). The second most prevalent was the G9 type (31.2%), followed by G2 (4.0%), G3 (3.5%), G4 (2.2%), mix infection (1.8%) and G12 (0.5%). The more frequent association was P[8]G1 and P[8]G9. We performed a sequence analysis of 38 P[8]G1 rotavirus strains, selected from a total of 341 P[8]G1. Two strains from 1997, 1998, 2001, and 2002 were analyzed; three strains from 1996, 1999, and 2003; four strains from 2000; seven strains from 2004, and 2005; and five strains from 2006. All 38 rotavirus G1 sequence in this study were found to be classified into two distinct lineages, lineage I with 44.7% (17/38) and lineage II with 55.3% (21/38). The G1-I lineages were detected during six rotavirus seasons 1996-1997, 2001-2002, and 2004-2006 whereas and lineage G1-II was detected during 1998-2001, and 2003-2005. Preliminary analyses

demonstrated that Rotarix[®] has been efficacious against these G1 lineages.

Keywords: Rotavirus. Diarrhea. Genotypes. Genetic diversity. Phylogenetic Analysis. Lineages. Vaccine.

.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Partícula de rotavírus observada ao microscópio eletrônico JEOL JEM-1011.....	20
Figura 2 -	Representação esquemática dos segmentos genômicos e estrutura tridimensional em 3D da partícula viral de Rotavírus-A Símio (SA11).....	23
Figura 3 -	Representação esquemática da estrutura do gene dos RVs.....	34
Figura 4 -	Demonstração esquemática do padrão de migração eletroforética dos segmentos de amostras de rotavírus dos grupos A a G.....	35
Figura 5 -	Distribuição dos genótipos de rotavírus no Brasil por região geográfica.....	59
Figura 6 -	Demonstração esquemática do <i>reassortant</i> entre amostras de RV animal e humana na produção da vacina tetravalente humana com VP7 sorotipos específicos.....	64
Figura 7 -	Distribuição sazonal de RVs detectados em amostras de pacientes com quadro de diarreia aguda, provenientes do Estado de São Paulo, entre o período de 1996 e 2006.....	85
Figura 8 -	Distribuição de RVs de acordo com a faixa etária, em amostras de pacientes com quadro de diarreia aguda, provenientes do Estado de São Paulo, entre o período de 1996 e 2006.....	86
Figura 9 -	Distribuição dos genótipos G (VP7) de rotavírus em amostras de pacientes com quadro de diarreia aguda, provenientes do Estado de São Paulo, entre o período de 1996 e 2006.....	90
Figura 10 -	Distribuição dos genótipos P (VP4) de rotavírus em amostras de pacientes com quadro de diarreia aguda, provenientes do Estado de São Paulo, entre 1996 a 2006.....	92
Figura 11 -	Distribuição dos genótipos P (VP4) de rotavírus em amostras de pacientes com quadro de diarreia aguda, provenientes do Estado de São Paulo, entre 1996 a 2006.....	97
Figura 12 -	Amplificação do gene 9 (VP7) das amostras de rotavírus P[8]G1 por RT-PCR, canaletas correspondem às amostras 1 a 18; Padrão de tamanho molecular 100 pb (M).....	98
Figura 13 -	Amplificação do gene 9 (VP7) das amostras de rotavírus P[8]G1 por RT-PCR, canaletas correspondentes as amostras 19 a 38; Padrão de tamanho	

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:

