

66ª Reunião Anual da SBPC

Resumo aceito para apresentação na 66ª Reunião Anual da SBPC pela(o):
SBPC - SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA

C. Ciências Biológicas - 10. Microbiologia - 1. Microbiologia**DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE NOROVÍRUS EM AMOSTRAS DE SANGUE E FEZES DE CRIANÇAS HOSPITALIZADAS COM QUADRO DE GASTREENTERITE AGUDA, BELÉM – PA.**

Tammy Kathlyn Amaral Reymão - Instituto Evandro Chagas
Maria Cleonice Aguiar Justino - Instituto Evandro Chagas
Joana D'Arc Pereira Mascarenhas - Instituto Evandro Chagas
Alexandre da Costa Linhares - Instituto Evandro Chagas
Yvone Benchimol Gabbay - Instituto Evandro Chagas

INTRODUÇÃO:

Os Norovírus (NoV) têm adquirido importância cada vez maior como causa de gastroenterite aguda (GA) em humanos, sobretudo em crianças menores de cinco anos. Estima-se que sejam responsáveis por cerca de 90% dos surtos de GA não bacterianos no mundo, ocasionando anualmente mais de 1 milhão de hospitalizações e cerca de 200.000 mortes em menores de 5 anos. Os NoV pertencem à família *Caliciviridae*, não possuem envelope lipídico e apresentam RNA de fita simples e polaridade positiva. Estes vírus são os principais causadores de surtos de GA, sendo implicados também em casos esporádicos, e os principais sintomas relatados durante a infecção são diarreia, vômitos e febre. Alguns estudos têm relatado sintomas incomuns associados à infecção por NoV, como convulsões, coagulação intravascular disseminada e enterocolite necrosante, sintomas estes que podem estar relacionados à disseminação extra-intestinal destes vírus. Existem poucos estudos em relação à capacidade de circulação dos NoV fora do intestino.

OBJETIVO DO TRABALHO:

O presente estudo teve por objetivo investigar os norovírus como causa de possível viremia em crianças hospitalizadas com gastroenterite aguda, além de correlacionar a presença deste patógeno no sangue com a gravidade do quadro clínico e a carga viral nas fezes.

MÉTODOS:

No período entre março de 2012 e março de 2013 foram coletadas amostras pareadas de sangue e fezes de crianças hospitalizadas com quadro de GA em um hospital público da cidade de Belém, Pará. A detecção primária de NoV nas amostras fecais foi realizada utilizando o ensaio imunoenzimático (EIE) (kit RIDASCREEN® Norovirus 3rd Generation, R-Biopharm), conforme recomendações do fabricante. Para a detecção de NoV no sangue, utilizou-se o soro dos pacientes, do qual o RNA viral foi extraído utilizando o kit QIAmp Viral RNA Mini Kit® (QIAGEN), conforme orientações do fabricante. Amostras fecais positivas no EIE e todos os soros recebidos foram testados por RT-qPCR utilizando o sistema TaqMan com os iniciadores COG2F/COG2R e a sonda RING-2. Para a quantificação das amostras e cálculo da carga viral utilizou-se, em cada reação, uma curva-padrão plasmidial com concentrações seriadas conhecidas. As amostras positivas foram submetidas à RT-PCR com os iniciadores Mon431/432 e G2SKR para sequenciamento. Amostras que não amplificaram nesta reação foram submetidas à semi-nested PCR com os *primers* COG2F/G2SKR. A análise estatística foi realizada com o programa BioEstat, onde aplicou-se o teste de Mann-Whitney. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A positividade encontrada nas fezes através do EIE foi de 21,9% (29/132), sendo todas confirmadas pela RT-qPCR. Seis amostras apresentaram positividade apenas pela RT-qPCR, todas oriundas de co-infecção com Rotavírus (RV). A presença de RNA de NoV no soro foi observada em 31,4% (11/35) dos casos, sendo superior à detectada em estudo semelhante conduzido no Japão em 2009. A caracterização genética demonstrou a prevalência do genótipo GII.4, porém, o genótipo GII.7 foi detectado em 7,4% das amostras fecais. Duas amostras de soro foram caracterizadas, apresentando o genótipo GII.4. Em relação a este genótipo, ressalta-se que é o prevalente em infecções por NoV a nível global. Nos espécimes deste estudo, foram detectadas duas cepas distintas deste genótipo, denominadas variante 2010 (New Orleans) e variante 2012 (Sydney). A análise estatística demonstrou que houve diferença no tempo de hospitalização dos pacientes com GA por NoV com presença de RNA viral no sangue em relação aos pacientes com GA por NoV sem a presença de RNA viral no sangue ($p = 0,0128$). Observou-se ainda que nos casos em que foi detectado RNA viral no soro a carga viral presente nas fezes foi maior do que nos casos com presença de RNA viral somente nas fezes ($p = 0,0101$).

CONCLUSÕES:

Este estudo demonstrou a circulação extra-intestinal de NoV em crianças com gastroenterite aguda causada por este vírus. Os dados fornecidos são de grande relevância para ampliar o conhecimento sobre a patogenicidade de

NoV fora do trato gastrointestinal, além de esclarecer sobre a variedade das manifestações clínicas causadas nas Norovirose (NoVs), podendo auxiliar o desenvolvimento de novas estratégias de diagnóstico e profilaxia.

Palavras-chave: Norovírus, Soro, Gastreenterite aguda.