



Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

RELAÇÃO FILOGENÉTICA DO VÍRUS DA RAIVA (*RABIES LYSSAVIRUS*) EM DOIS DIFERENTES HOSPEDEIROS¹

PHYLOGETIC RELATIONSHIP OF RABIES VIRUS (*RABIES LYSSAVIRUS*) IN TWO DIFFERENT HOSTS

Maicon da Silva Schreiber², Juliana Maria Fachineto³

¹Pesquisa desenvolvida no curso de Ciências Biológicas - Bacharelado da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (Unijuí) como Trabalho de Conclusão de Curso em conjunto ao Programa de Educação Tutorial (PET/MEC/SeSu);

²Estudante do Curso de Ciências Biológicas - Bacharelado da Unijuí;

³Docente do Curso de Ciências Biológicas e do Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da Unijuí.

RESUMO

A raiva é uma zoonose fatal que infecta mamíferos. Os morcegos são conhecidos hospedeiros do vírus e, sua principal fonte de alimento, o sangue dos bovinos, faz com que estes sejam vítimas da doença. Assim, o objetivo do trabalho foi analisar as relações filogenéticas de amostras do vírus dos dois hospedeiros, morcegos e bovinos. O gene G é indicado para este tipo de pesquisa por estar relacionado com o processo de infecção. As análises foram conduzidas utilizando o software MEGA-X, com sequências obtidas no GenBank. A árvore de Máxima Parcimônia, indicou através das análises filogenéticas do gene G, que o vírus evoluiu a partir dos morcegos para os bovinos.

Palavras-chave: filogenia. virologia. raiva.

INTRODUÇÃO

A raiva é uma zoonose, invariavelmente fatal, causada pela infecção aguda do sistema nervoso central de mamíferos. No Brasil são descritas duas variantes, uma associada ao ciclo urbano, isolada de cães, gatos e humanos e, outra ao ciclo silvestre, isolada de morcegos e bovinos (KOBAYASHI *et al.*, 2006; RISSI, 2010; MARCOLONGO-PEREIRA *et al.*, 2011).

O vírus da raiva pertence à família *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus* (ICTV, 2019). Compreende um vírus de RNA de fita simples com sentido negativo. O genoma viral contém cinco genes distribuídos na ordem 3' N-P-M-G-L 5' (VIEIRA, 2007), que codificam cinco proteínas: a nucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína de matriz (M), glicoproteína (G) e a RNA polimerase RNA viral-dependente (L) (BATISTA *et al.*, 2007).



Na América do Sul, a raiva nos herbívoros ocorre de forma cíclica, reaparecendo com periodicidade de 3-7 anos (HUDSON *et al.*, 1996). Geralmente é transmitida pelo morcego hematófago *Desmodus rotundos*, espécie mais comum e abundante de morcego vampiro.

Diante dessa relação cíclica entre bovinos e morcegos na transmissão do vírus da raiva, o objetivo deste estudo foi analisar a relação filogenética de amostras do vírus provenientes de dois diferentes hospedeiros.

METODOLOGIA

Foram selecionadas sequências de RNA da glicoproteína (G), obtidas do banco de dados GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), utilizando os seguintes parâmetros de busca: “*nucleotide, glycoprotein, rabies lyssavirus, bat, partial*”, o mesmo foi feito para os bovinos, substituindo o termo “*bat*” por “*cattle*”. O vírus *European bat lyssavirus 1* (EBLV-1) foi escolhido como grupo externo. Utilizou-se como parâmetros: “*nucleotide, glycoprotein, european bat lyssavirus 1, partial*”, selecionando uma sequência com tamanho de 743 bp.

Para a análise dos dados, utilizou-se o software MEGA-X (KUMAR *et al.*, 2018; (disponível em <https://www.megasoftware.net/>). O alinhamento foi realizado no MUSCLE, corrigida manualmente. Após, foi executada análise de Máxima Parsimônia, gerando a filogenia. Verificou-se o enraizamento do grupo externo e, calculou-se o suporte dos ramos pelo método de Bootstrap em 1000 repetições, escolhendo o valor de corte 50% para confiabilidade dos dados na árvore de consenso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises envolveram 44 sequências, 12 correspondendo para morcegos e 32 para bovinos, com tamanhos entre 805 bp e 1572 bp. Foram obtidos um total de 1595 pares de bases. Destes, 871 sítios permaneceram conservados, 724 variáveis e 412 parcimoniosamente informativos. Foram geradas 10 árvores de máxima parcimônia com tamanho de 1138. O índice de consistência é 0,78 e retenção 0,83. A Figura 1 apresenta a filogenia gerada a partir da análise de Máxima Parcimônia. Nos ramos estão reproduzidos os valores de bootstrap acima de 50%, indicando confiabilidade dos dados.

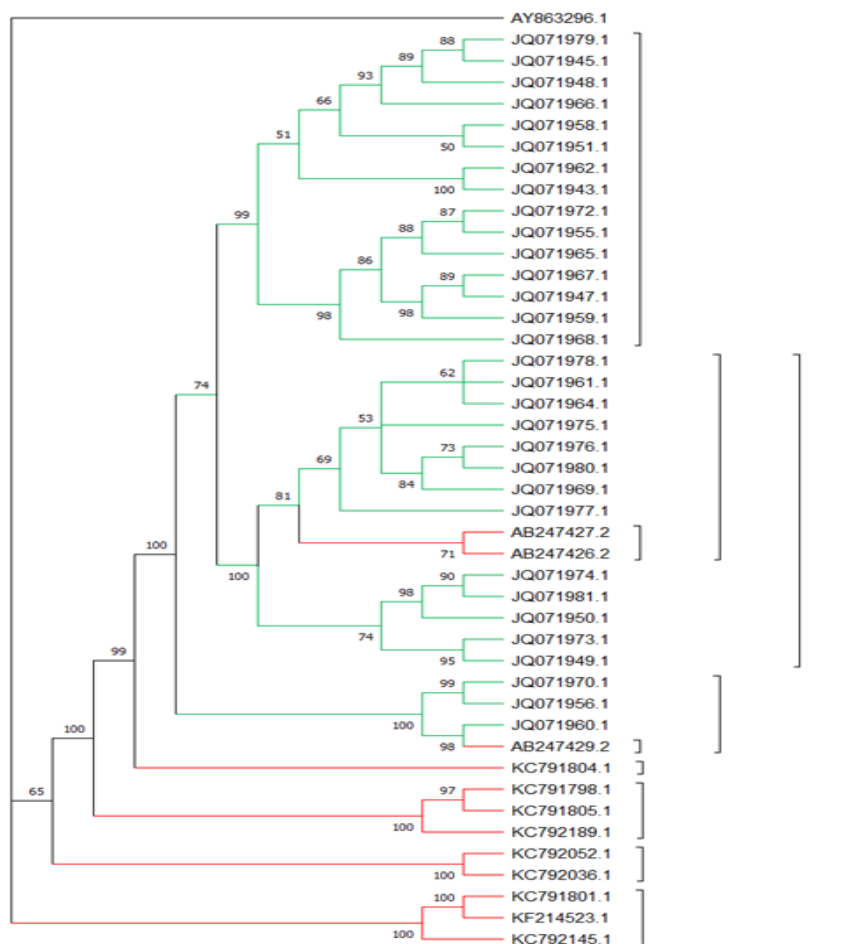


Figura 1: árvore de máxima parsimônia. A cor vermelha indica amostras isoladas de morcegos e a verde de bovinos. Os valores de bootstrap são mostrados próximos aos ramos. O código das amostras refere-se ao código do GenBank. AY863296.1 é o grupo externo.

A relação vírus-hospedeiro promove uma situação extraordinária para estudar os processos evolutivos. Vírus são parasitas intracelulares obrigatórios e sua evolução está ligada a biologia do hospedeiro (LOBO *et al.*, 2009). O gene G é indicado para estudos que envolvam análises genéticas, por ser utilizado para classificar os isolados de RABV de acordo com a linhagem, espécie hospedeiro e origem geográfica (SATO *et al.*, 2004; CARNELUTTI *et al.*, 2017). A glicoproteína é responsável pela adsorção e desnudamento viral, catalisa a fusão da membrana endocítica e é o principal antígeno dos rhabdovírus (VIEIRA, 2007).

Os morcegos são conhecidos como os principais reservatórios para todos os *Lyssavirus* (KUZMIN *et al.*, 2012). Acredita-se que os membros do gênero tenham evoluído originalmente nos morcegos e mais tarde para os carnívoros (RUPPRECHT *et al.*, 2011). Este estudo corrobora que o mesmo possa ter acontecido para os bovinos. A espécie de morcego



vampiro *D. rotundus* está distribuída por toda a América Latina, ocorrendo desde o norte do México até a Argentina (AGUIAR *et al.*, 2007). Como *D. rotundus* alimenta-se preferencialmente de bovinos, a introdução e disseminação dos rebanhos proporcionou recursos alimentares amplamente disponíveis. Dessa forma, o caráter endêmico da raiva nos bovinos é mantido, dando origem a surtos esporádicos da doença (FERNANDES, 2020). Quando intervenções, como vacinação e vigilância, não são implementadas ou não são bem sucedidas, o vírus pode estabelecer-se em um novo hospedeiro (MARSTON *et al.*, 2018).

Não foram encontrados estudos que relacionem a evolução do vírus de morcegos para bovinos. Entretanto, o trabalho conduzido por Badrane *et al.* (2001), evidenciou que há forte suporte filogenético indicando que os *Lyssavirus* em quirópteros são muito anteriores aos de carnívoros e que a mudança de hospedeiros ocorreu na história do gênero. Os autores conduziram estudos com linhagens do vírus isoladas de guaxinins, gambás e morcegos. Observaram que as linhagens estão filogeneticamente relacionadas (BADRANE; VELASCO-VILLA *et al.*, 2005).

A árvore de máxima parcimônia (Figura 1) gerada, teve índice de consistência 0,78 e retenção 0,83. O índice de consistência foi proposto para mensurar o nível de homoplasia, quanto maior seu valor menor será o número de homoplasias presentes. Enquanto o índice de retenção mede quantas das sinapormorfias são reais e, também, considera o número máximo de mudanças de um caráter (FARRIS, 1989). Os resultados obtidos indicam que as sequências utilizadas estão adequadas para a análise realizada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através desta pesquisa é possível evidenciar que o vírus (RABV) evoluiu a partir dos morcegos para os bovinos. Estudos das relações vírus-hospedeiro são importantes para compreender as infecções virais, possibilitando promover medidas de controle para prevenção de futuros surtos da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L. M. S. Subfamília Desmodontinae. *In*: REIS, N. R. *et al.* (Eds). **Morcegos do Brasil**. Londrina: Nelio R. dos Reis. 2007. cap. 03, p. 41-43.

BADRANE, H.; TORDO, N. Host switching in *Lyssavirus* history from the Chiroptera to the Carnivora orders. **J. Virol.** v. 75, p. 8096-8104. 2001.

BATISTA, H. B. C. R.; FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Raiva: uma breve revisão. **A. Sci. Vet.** v. 35, n. 2, p. 125-144. 2007.



- CARNELUTTI, J. F. *et al.* Glycoprotein-G-gene based molecular and phylogenetic analysis of rabies viroses associated with a larger outbreak of bovine rabies in Southern Brazil. **Arch. Virol.** v. 162, p. 3697-3704. 2017.
- HUDSON, L. C.; WEINSTOCK, D.; JORDAN, T. Clinical features of experimentally induced rabies in cattle and sheep. **J. Vet. Med. B.** v. 43, n. 2, p. 85-95. 1996.
- HU, S. C. *et al.* *Lyssavirus* in Japanese pipistrelle. **Emerg. Infect. Dis.** v. 24, p. 782-785. 2018.
- ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses. **Taxonomy history: Rabies lyssavirus.** Disponível em: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=201901733. Acesso em: 30 de julho de 2021.
- FARRIS, J. S. The retention index and the rescaled consistency index. **Cladistics**, 5:417-419. 1989.
- FERNANDES, M. E. S. *et al.* Phylogenetic analysis of rabies viroses isolated from cattle in Southern Brazil. **Virus Genes.** v. 56, p. 209-216. 2020.
- KING, A. M. K. *et al.* (2012) Genus *Lyssavirus*. In: KING A. M. K. (Eds) International Committee on Taxonomy of Viruses, 9 ed. **Elsevier**, San Diego, p. 696-699. 2012.
- KUMAR, S. *et al.* MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Mol. Bio. Evo.** v. 35, p. 1547-1549. 2018.
- LOBO, F. P. *et al.* Virus-host coevolution: common patterns of nucleotide motif usage in *Flaviviridae* and their hosts. **Plos One.** v. 4, n. 7, e6282. 2009.
DOI:10.1371/journal.pone.0006282. Disponível em: <https://10.1371/journal.pone.0006282>.
- RISSI, D. R. **Doenças de ovinos no Sul do Brasil.** 2010. 81 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- RUPPRECHT, C. E.; TURMELLE, A.; KUZMIN, I. V. A perspective on *Lyssavirus* emergence and perpetuation. **Curr. Opin. Virol**, v. 1, p. 662-670. 2011.
- SATO, G. *et al.* Genetic and phylogenetic analysis of glycoprotein of rabies virus isolated from several species in Brazil. **J. Vet. Med. Sci.** v. 66, n. 7, p. 747-753. 2004.
- VELASCO-VILLA, A. *et al.* Molecular epizootiology of rabies associated with terrestrial carnivores in Mexico. **Virus Res.** v. 111, p. 13-27. 2005.
- VIEIRA, F. P. **Caracterização molecular de vírus da raiva (*Lyssavirus* - *Rhabdoviridae*) isolados de espécimes clínicos de morcegos hematófagos *Desmodus rotundus* no norte e noroeste fluminense.** 2007. 103 p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2007.