

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Mestrado em Microbiologia**

**Prospecção e caracterização de vírus gigantes em  
amostras do Rio Negro, Amazônia**

Rafael Kroon Campos

Belo Horizonte  
2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Mestrado em Microbiologia**

**Prospecção e caracterização de vírus gigantes em  
amostras do Rio Negro, Amazônia**

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós Graduação em Microbiologia da  
Universidade Federal de Minas Gerais,  
como requisito parcial para a obtenção  
do título de Mestre em Ciências  
Biológicas

Aluno: Rafael Kroon Campos

Orientador: Jônatas Santos  
Abrahão

Belo Horizonte

2013

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Professor Jonatas pelos ensinamentos desde a etapa de aluno de iniciação científica. A cada passo vencido a sua ajuda e compreensão se tornaram mais importantes para mim.

Agradeço aos Professores, Coordenadores e Chefes do Departamento de Microbiologia e do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

Agradeço aos Professores e colegas do Laboratório de Vírus que tanto contribuíram para minha formação.

Agradeço em especial aos colegas do Grupo de estudo e prospecção de vírus gigantes pelo companheirismo e discussões científicas.

Agradeço Karen Larissa pela paciência e carinho nesta caminhada tão difícil.

Agradeço aos meus familiares pelo apoio científico, técnico e de carinho, especialmente a meus pais.

## SUMÁRIO

|                                                                   | <b>Página</b> |
|-------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                              | 1             |
| 1.1 Histórico                                                     | 1             |
| 1.2 Família <i>Mimiviridae</i>                                    | 2             |
| 1.2.1 <i>Acanthamoeba polyphaga mimivirus</i>                     | 3             |
| 1.2.1.1 Morfologia e características a partícula viral            | 3             |
| 1.2.1.2 Estrutura do genoma                                       | 6             |
| 1.2.1.3 Ciclo de multiplicação                                    | 8             |
| 1.2.1.4 Espectro de hospedeiros                                   | 10            |
| 1.2.1.5 Possível associação com infecções humanas                 | 12            |
| 1.2.2 Ecologia                                                    | 15            |
| 1.2.3 Evolução                                                    | 16            |
| 1.2.3 Virófagos                                                   | 17            |
| 1.2.4 Amebas do gênero <i>Acanthamoeba</i>                        | 19            |
| <b>2. JUSTIFICATIVA</b>                                           | 22            |
| <b>3. OBJETIVOS</b>                                               | 24            |
| 3.1. Objetivos gerais                                             |               |
| 3.2. Objetivos específicos                                        |               |
| <b>4. FLUXOGRAMA DE TRABALHO</b>                                  | 25            |
| <b>5. MATERIAIS E MÉTODOS</b>                                     | 26            |
| 5.1. Sistemas celulares                                           | 26            |
| 5.1.1. <i>Acanthamoeba castellani</i>                             | 26            |
| 5.2 Amostra padrão de vírus                                       | 27            |
| 5.3 Coleta, prospecção e isolamento de novos vírus                | 27            |
| 5.4 Multiplicação de vírus .....                                  | 29            |
| 5.5 Purificação de vírus                                          | 29            |
| 5.6 Titulação de vírus                                            | 30            |
| 5.7 Curva de ciclo único                                          | 30            |
| 5.8 Inibição de multiplicação de APMV após infecção com virofagos | 31            |
| 5.9 Reação em cadeia da polimerase (PCR)                          | 31            |
| 5.10 Sequenciamento e análises de sequências                      | 32            |
| 5.11 Microscopia eletrônica de transmissão                        | 33            |
| 5.12 Análise morfométrica                                         | 33            |

|                                                                                                     |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.13 Microscopia óptica                                                                             | 33        |
| <b>6 RESULTADOS</b>                                                                                 | <b>34</b> |
| 6.1 Identificação dos vírus por amplificação do DNA do gene da helicase viral                       | 34        |
| 6.2 Isolamento de vírus da família <i>Mimiviridae</i> em cultivo de <i>Acanthamoeba castellanii</i> | 35        |
| 6.3 Microscopia óptica de SMBV e de AMPV                                                            | 37        |
| 6.4 Microscopia eletrônica de transmissão de SMBV e de AMPV                                         | 38        |
| 6.5 Alinhamento e análise filogenética da sequência de aminoácidos do SMBV                          | 40        |
| 6.6. Virófago de SMBV                                                                               | 42        |
| 6.7 Curva de ciclo único de SMBV, APMV e RNV                                                        | 46        |
| 6.8. Análise da sequência de nucleotídeos de RNV                                                    | 46        |
| <b>7 DISCUSSÃO</b>                                                                                  | <b>48</b> |
| <b>8 CONCLUSÕES</b>                                                                                 | <b>51</b> |
| <b>9 PERSPECTIVAS</b>                                                                               | <b>52</b> |
| <b>10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>                                                                | <b>53</b> |
| <b>11 ANEXOS</b>                                                                                    | <b>64</b> |
| 11.1 Comprovante de registro para coleta de material botânico fúngico e microbiológico              | 64        |
| 11.2 Preparo de meio PYG                                                                            | 65        |
| 11.3 Publicações relacionadas à dissertação                                                         | 66        |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                            | Página |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Figura 1 - Partícula viral de APMV.....                                                                                                                    | 5      |
| Figura 2 - Estrutura de APMV. ....                                                                                                                         | 5      |
| Figura 3 - Representação do genoma de APMV.                                                                                                                | 7      |
| Figura 4 - Distribuição genômica de 128 ORFs conservados de mimivírus.                                                                                     | 8      |
| Figura 5 - APMV penetra em macrófagos por um processo de fagocitose.                                                                                       | 9      |
| Figura 6 - Cernes de mimivírus em diferentes estágios da infecção visto em tomografia eletrônica.                                                          | 10     |
| Figura 7 - Radiografia de pulmão de técnico de laboratório que trabalhou com AMPV e desenvolveu um quadro de pneumonia.....                                | 14     |
| Figura 8– Microscopia eletrônica de mamavírus infectado com Sputnik.                                                                                       | 19     |
| Figura 9 – Pontos de Coleta, Rio Negro, AM, Brasil                                                                                                         | 28     |
| Figura 10 – Amplificação de DNA do gene da helicase viral de amostras de água do Rio Negro                                                                 | 35     |
| Figura 11 – Efeito citopático de AMPV em <i>Acanthamoeba castellanii</i>                                                                                   | 36     |
| Figura 12 – Efeito citopático em cultura de <i>Acanthamoeba castellanii</i> após inoculação com amostra de água do ponto A2                                | 37     |
| Figura 13 - Microscopia óptica de partículas purificadas de AMPV e SMBV                                                                                    | 38     |
| Figura 14 – Microscopia eletrônica de transmissão do SMBV.                                                                                                 | 39     |
| Figura 15- Morfometria das partículas de SMBV                                                                                                              | 39     |
| Figura 16 –Alinhamento da sequência de aminoácidos evidenciando a substituição                                                                             | 40     |
| Figura 17 - Análise filogenética feita utilizando as sequências de aminoácidos da proteína helicase do SMBV                                                | 41     |
| Figura 18 - Microscopia eletrônica de transmissão do RNV.                                                                                                  | 43     |
| Figura 19 - Amplificação por PCR em tempo real empregando iniciadores para o gene de capsídeo de SPNV de amostras de SMBV purificado e controle de amebas. | 44     |
| Figura 20 - Redução de infectividade do mimivírus por infecção com RNV                                                                                     | 45     |
| Figura 21 – Curva de ciclo único de APMV, SMBV e APMV co-infectado com RNV.                                                                                | 46     |

Figura 22 - Análise filogenética e alinhamento de sequência de nucleotídeos de gene de capsídeo de RNV.

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                      | <b>Página</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Tabela 1. Vírus gigantes núcleo-citoplasmáticos de DNA (NCLDVs) e as principais características..... | 3             |
| Tabela 2. Iniciadores para o gene da helicase de APMV e do capsídeo de SPV.....                      | 32            |
| Tabela 3 – Triagem dos pools por PCR em tempo real                                                   | 34            |



## LISTA DE ABREVIATURAS

APMV - *Acanthamoeba polyphaga mimivirus*

ATCC - American Type Culture Collection

ICTV - Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus

kDa – quilo Dalton

MCP - proteína maior do capsídeo

mRNA – RNA mensageiro

nm – nanômetro

m.o.i – multiplicidade de infecção

NCLDVs - vírus gigantes núcleo-citoplasmáticos de DNA

ORFs - janelas abertas de leitura

pb – pares de bases

PBS – tampão salina fosfato

PI3K - fosfatidilinositol 3-quinases

PCR – (*polimerase chain reaction*) reação em cadeia da polimerase

PYG -peptone–yeast extract–glucose

RNV – Rio Negro virophage

rpm – rotações por minuto

SFB - soro fetal bovino

SMBV – Samba virus

SPNV – Sputnik virophage

TA – temperatura ambiente

TCID<sub>50</sub> -dose infecciosa para 50% da cultura de tecidos

µL – microlitro

VF – fábrica viral

## RESUMO

A família *Mimiviridae* compreende vírus gigantes de DNA que são estudados como agentes etiológicos hipotéticos de pneumonia em humanos. Estudos metagenômicos recentes detectaram DNA de vírus dessa família em ecossistemas aquáticos naturais em alguns países do hemisfério norte, além de uma região litorânea do Chile. Até o momento, nenhum membro da família *Mimiviridae* havia sido descrito em território brasileiro. Embora a Amazônia seja conhecida pela grande biodiversidade, existem poucos estudos que demonstrem provável riqueza de vírus neste bioma. Assim, esse trabalho teve como objetivo a prospecção de vírus da família *Mimiviridae* e outros vírus gigantes em águas do Rio Negro, AM, Brasil. A coleta foi feita em diversos pontos do Rio Negro em região próxima a Manaus. As amostras de água foram submetidas a um processo de enriquecimento em meio de água-arroz e filtradas (em filtro de 200 nm) para retenção dos vírus no filtro. As amostras foram então inoculadas em cultivo de amebas para isolamento e paralelamente submetidas a ensaios de PCR em tempo real, para amplificação do DNA do gene da helicase dos vírus da família *Mimiviridae*. No presente trabalho descrevemos o isolamento e caracterização do Samba virus (SMBV), um novo vírus do gênero *Mimivirus*, nas águas do Rio Negro da Amazônia brasileira; bem como o isolamento e caracterização de um virófago associado, denominado Rio Negro virophage (RNV), o primeiro virófago de mimivírus isolado nas Américas. A análise do gene da helicase revelou que SMBV se agrupa filogeneticamente com os mimivírus do grupo A, incluindo representantes como mimivírus e mamavírus. O virófago foi identificado por PCR em tempo real empregando iniciadores para o gene de capsídeo, confirmando sua identidade e a análise revelou 100% de identidade com o Sputnik virus. Testes biológicos e de microscopia eletrônica revelaram características únicas de SBMV e RNV. O presente estudo abre novas perspectivas para o estudo de vírus gigantes no Brasil.

Palavras-chave: *Mimiviridae*, Amazônia, Rio Negro, vírus gigantes, riqueza, biodiversidade.

## ABSTRACT

The family *Mimiviridae* comprises giant DNA viruses that are studied as putative etiological agents of pneumonia in humans. Recent metagenomic studies detected DNA of this virus in natural aquatic ecosystems in some northern countries, as well as a coastal region of Chile. To date, members of the *Mimiviridae* family were not described in Brazil. While the Brazilian Amazon has a huge biodiversity and there are few studies that address the virosphere of this biome. This study aimed to explore viruses of the *Mimiviridae* family and other giant viruses in waters of the Rio Negro, AM, Brazil. Water was collected near Manaus, at various points of the Rio Negro. Water samples were enriched in rice-water medium and filtered (200 nm) to separate the viruses, which are retained on the filter. The samples were then inoculated in amoebae for isolation and amplification of mimivirus DNA from the helicase gene. A new virus of the genus *Mimivirus* was isolated from the waters of Rio Negro and characterized. This virus was named Samba virus (SMBV). Additionally, an associated virophage was also isolated and named Rio Negro virophage (RNV). RNV is the first mimivirus virophage isolated in the Americas. The helicase gene analysis revealed that SMBV was phylogenetically clustered in the mimivirus group A mimivirus, which includes representants as mimivirus and mamavirus. The virophage was identified by real-time PCR using primers for the capsid gene of previously known virophages. Sequence analysis revealed 100% identity of RNV with the virophage *Sputnik virus*. Biological approach and electronic microscopy identified unique characteristics of SMBV and RNV. This study opens new perspectives for the giant viruses in Brazil.

Key words: *Mimiviridae*, Amazonas, Rio Negro, giant viruses, biodiversiy

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Histórico

Os mimivírus foram inicialmente isolados em 1992 durante uma investigação de pneumonia em um hospital de Bradford, na Inglaterra (Raoult et al., 2002). O agente infeccioso foi identificado como uma bactéria (cocos de Bradford) uma vez que se apresentava como um coco Gram-positivo nos ensaios de Gram. Todavia, por não apresentar crescimento independente em meio axênico, por não responder a nenhum antibiótico, e por não apresentar o gene codificador de 16 S RNA ribossomal (16S rRNA), este microorganismo despertou grande curiosidade. Após ensaios de microscopia eletrônica, foi possível observar que os cocos de Bradford eram na verdade vírus gigantes com simetria do tipo icosaédrica (Raoult et al., 2002). O nome mimivírus foi empregado por fazer alusão ao fato de que estes vírus **mimetizavam micróbios**, no caso bactérias (La Scola et al., 2003).

A descoberta do *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV), nome oficial do mimivírus, marcou e agregou ainda mais valor ao grupo dos vírus gigantes de DNA, até então compostos por vírus das famílias *Asfarviridae*, *Ascoviridae*, *Phycodnaviridae*, *Iridoviridae* e *Poxviridae* (Yutin et al., 2009). APMV, o então maior dos vírus gigantes núcleo-citoplasmáticos de DNA (NCLDVs), deixou os virologistas perplexos pelo tamanho de sua partícula e genoma. A demora para a descoberta de muitos vírus gigantes, hipoteticamente ubíquos na natureza, deveu-se provavelmente ao fato de que as técnicas microbiológicas utilizadas para detecção e isolamento viral selecionavam vírus menores que 200nm, não contemplando, portanto os vírus gigantes. Além disso, os protistas, hospedeiros preferenciais de muitos vírus gigantes eram, e ainda são, pouco estudados no contexto da virologia (Claverie, 2005). Com a descoberta dos mimivírus, o conceito universal de que vírus eram menores que bactérias foi questionado, uma vez que alguns membros do domínio Eubacteria apresentam dimensões menores que o descrito para os mimivírus (La Scola et al., 2003).

Recentemente foram isolados os vírus gigantes *Pandoravirus salinus* na costa do Chile e *Pandorvirus dulcis* na Austrália, com genomas ainda maiores de 2,5 e 1,9 megabases, respectivamente. Porém, apresentam pouca semelhança genômica e morfológica com os mimivírus (Philippe et al, 2013).

## **1.2 Família *Mimiviridae***

A família *Mimiviridae* compreende vírus gigantes com genoma de DNA de fita dupla e morfologia complexa, que se multiplicam no citoplasma da célula hospedeira. A família compreende apenas o gênero *Mimivirus*, que por sua vez possui uma única espécie: AMPV (ICTV, 2012).

Em 2008 foi identificado uma amostra de APMV que foi denominada de mamavírus (La Scola, et al., 2008) e que foi sequenciada em 2011 (Colson et al., 2011). As amostras são similares porém apresentam divergências principalmente nas regiões terminais.

Embora a família *Mimiviridae* possua atualmente uma única espécie reconhecida pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) é provável que este cenário mude em breve, uma vez que novas espécies estão sendo identificadas, como é o caso do *Megavirus chilensis*, espécie ainda não confirmada da família (Arslan et al., 2011).

Os vírus do gênero *Mimivirus* pertencem ao grupo dos NCLDV (Tabela 1), e são filogeneticamente relacionados com as famílias *Phycodnaviridae*, *Iridoviridae*, *Poxviridae*, *Ascoviridae* e *Asfarviridae*. Atualmente, a ordem *Megavirales* está sendo discutida para englobar todas essas famílias de vírus (Colson et al., 2012)

Estudos metagenômicos indicaram a provável existência de outros membros da família *Mimiviridae* (Ghedini et al., 2005), que provavelmente possuem amebas, algas, esponjas ou corais como hospedeiros (Claverie et al., 2009; Monier et al., 2008).

**Tabela 1. Vírus gigantes núcleo-citoplasmáticos de DNA (NCLDVs) e as principais características.** Fonte: Yutin et al., 2009 mod.

| Família                | Hospedeiros                         | Genoma (kb)        | Partícula (nm) | Sítio de multiplicação |
|------------------------|-------------------------------------|--------------------|----------------|------------------------|
| <i>Phycodnaviridae</i> | Algas                               | 150- 400           | 120-150        | Núcleo e citoplasma    |
| <i>Poxviridae</i>      | Insetos, répteis, aves, mamíferos   | 130-380            | 220-450        | Citoplasma             |
| <i>Asfarviridae</i>    | Mamíferos                           | 170                | 175-215        | Citoplasma             |
| <i>Ascoviridae</i>     | Insetos                             | 150-190            | 200-400        | Núcleo e citoplasma    |
| <i>Iridoviridae</i>    | Insetos, vertebrados de sangue frio | 100-220            | 120- 200       | Núcleo e citoplasma    |
| <i>Mimiviridae</i>     | <i>Acanthamoeba</i>                 | 1.180-1280         | 400-750        | Citoplasma             |
| *Pandora virus         | <i>Acanthamoeba</i>                 | 1.900 – 2.700..... | ..1000         | não determinado        |

\* não assinalado em família .

### **1.2.1 *Acanthamoeba polyphaga mimivirus***

#### **1.2.1.1 Morfologia e características da partícula viral**

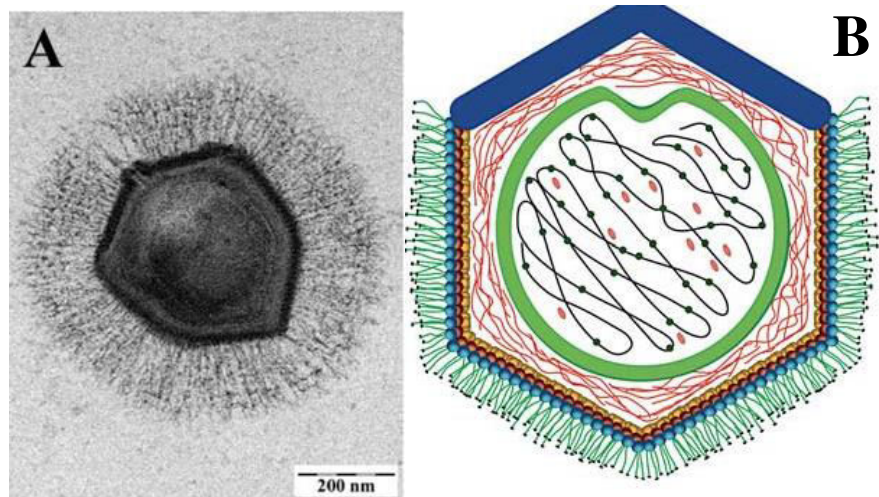
A partícula viral do APMV pode apresentar até 800nm de diâmetro (Fig. 1A) levando em conta as fibras presentes na superfície externa do capsídeo (Raoult et al., 2007). Na estrutura do vírus podem ser encontrados o cerne, o capsídeo, membrana interna e fibras (Fig. 1B).

O capsídeo apresenta simetria semi-icosaédrica pentagonal (La Scola, et al., 2003; Xiao et al., 2005), uma vez que em um de seus eixos é possível observar uma estrutura pentagonal, em forma de estrela-do-mar. Os braços desta estrutura estão inseridos entre cada uma das cinco faces triangulares associado com o vértice, que faz com que a forma do capsídeo não se enquadre completamente na simetria icosaédrica. Esta estrutura pentagonal se apresenta projetada de forma convexa, e

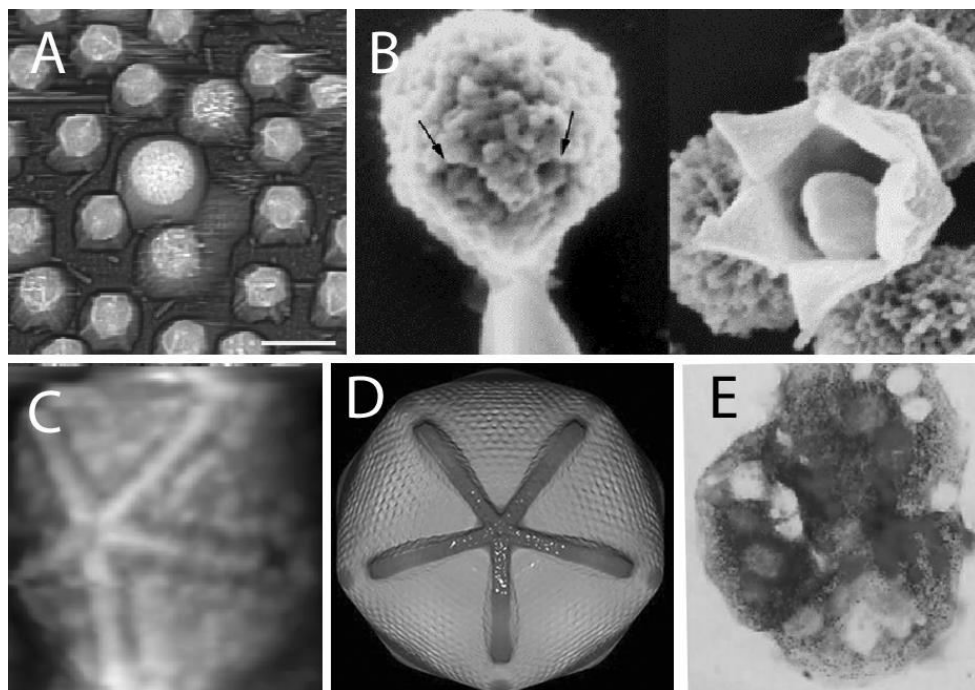
pode estar relacionada como uma possível via de liberação do material genético, durante o desnudamento viral (Fig. 2). Como essa característica é semelhante aos bacteriófagos, acredita-se que o espaço entre a membrana que envolve o genoma e a estrutura em forma de estrela do mar pode conter enzimas para digerir componentes estruturais do hospedeiro, assim como nos bacteriófagos (Zauberman et al., 2008). A proteína maior do capsídeo (MCP) é organizada como uma rede de anéis hexagonais com depressões centrais de 14nm (Kuznetsov, et al, 2010).

As fibras superficiais são proteicas e glicosiladas com comprimento em torno de 140nm e diâmetro de 1,4 nm. São encapadas por proteínas elipsoidais com massa molecular de 25kDa. As fibras são ligadas a partícula viral por uma camada de proteína que recobre o capsídeo (Kuznetsov, et al, 2010). As fibras são flexíveis e resistentes a proteases. Quando tratadas com lisozimas se tornam sensíveis a proteases sugerindo que as fibras são protegidas por peptidoglicano (Fig. 1) (Xiao, et al., 2009). A função das fibras ainda está sob investigação, mas tem sido sugerido um possível papel na atração de amebas e consequente estímulo à fagocitose, modo pelo qual as partículas virais penetram nas amebas (Claverie, et al., 2006; Klose et al., 2010). Foram identificadas glicanas virais associadas às fibras na superfície dos mimivírus (Piacente, et al. 2012)

O APMV mostrou alta resistência à substâncias químicas, especialmente ao etanol. Somente o cloro e o glutaraldeído apresentaram efeito virucida. As partículas virais dessecadas mostraram alta estabilidade em superfície inanimada, mesmo na ausência de matéria orgânica (Campos et al., 2012). Recentemente, Slimani et al. (2013) aproveitando a propriedade dos mimivírus de resistência ao etanol, propuseram o emprego do etanol como método de eliminação de contaminantes bacterianos das culturas para facilitar o isolamento de vírus gigantes. APMV também mostrou maior estabilidade quando localizado nas amebas hospedeiras (Borato et al., 2013)



**Figura 1-Partícula de APMV.**A. Microscopia eletrônica de APMV, partícula isolada **B.** Representação de partícula viral mostrando o cerne, fibras,o capsídeo, as membranas internas e as fibras.**Fonte:**A. Ghigo et al.,2008; B. Klose et al., 2010.



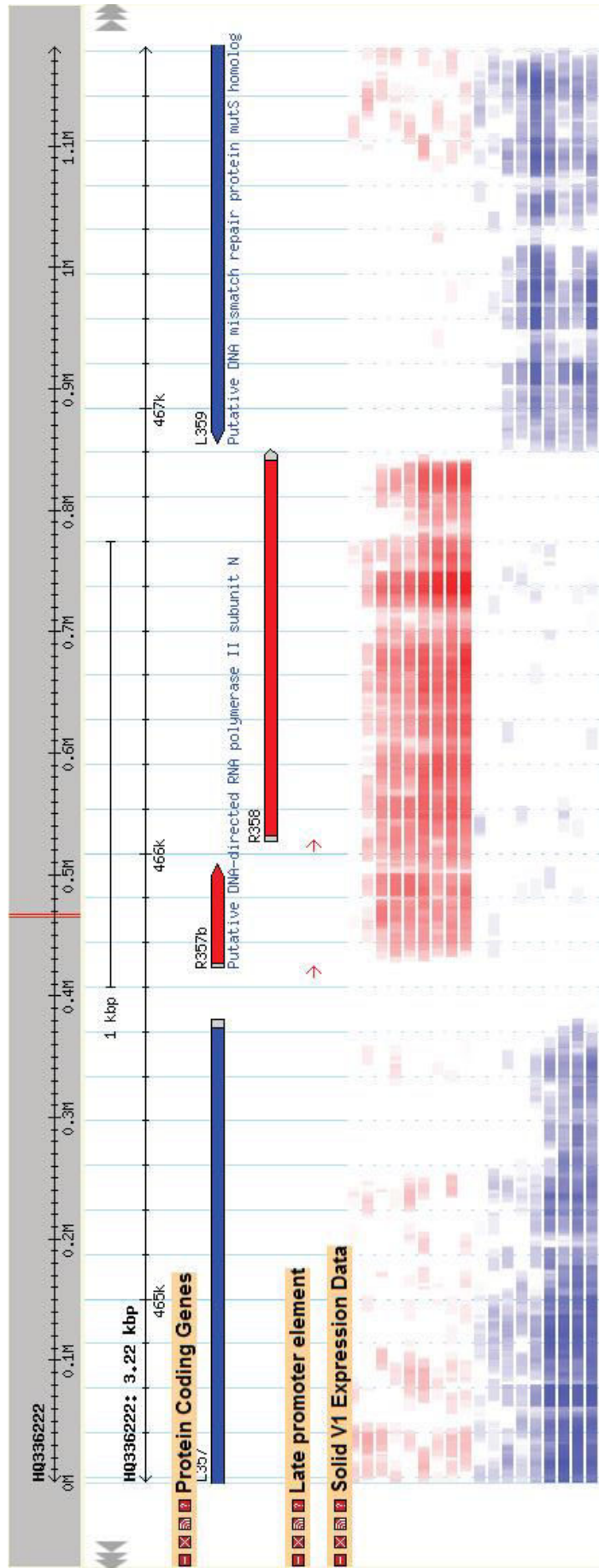
**Figura 2 – Estrutura de APMVA. e C.**Partículas virais sem fibras observadas em microscopia de força atômica (Fonte: Xiao et AL., 2009) **B.** APMV apresentando via de liberação de DNA diferenciada. **D.** Representação da estrutura em forma de estrela do mar. **E.** Mimivírus em coloração de Gram. **Fonte:** Zauberan et al., 2008.



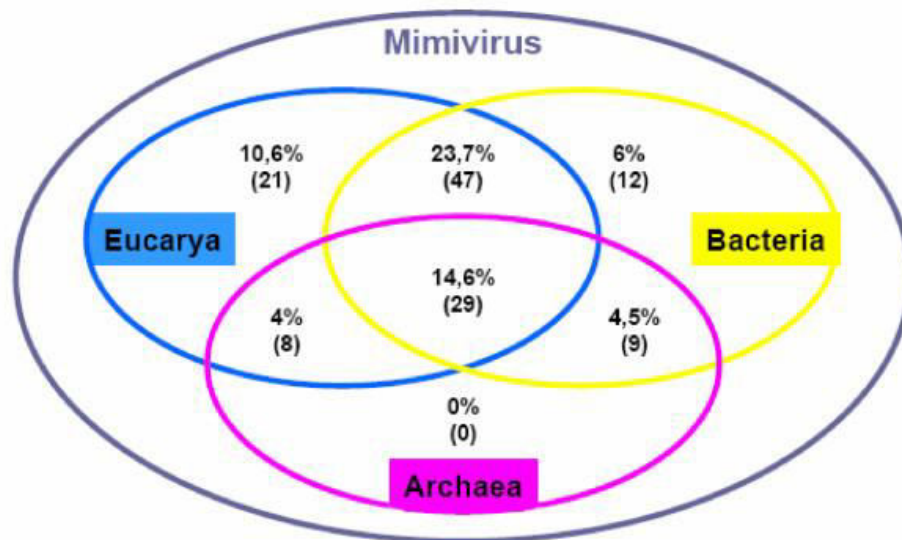
### 1.2.1.2 Estrutura do Genoma

O genoma do AMPV possui aproximadamente 1,2 Mb de DNA de dupla fita e apresenta 1018 genes (Legendre et al., 2011), os quais codificam para 979 proteínas preditas, seis tRNAs e 33 regiões correspondem a genes de RNA não codificadores (Fig. 3). Os mimivírus codificam para um grande número de componentes do sistema transcricional como as duas subunidades maiores de RNA polimerase II (R501 e L244), e quatro subunidades menores a Rpb3/Rpb11 (R470), Rpb5 (L235), Rpb6 (R209), Rpb7/E(L376). Os mimivírus também possuem sua própria poli (A) polimerase (R341) e diversos fatores de transcrição (L250, R339, R350, R429, R450, R559) (Legendre, et al., 2011). Na análise de 128 janelas abertas de leitura (ORFs) conservadas, o número de genes homólogos entre Eukaria, Archaea e Eubacteriae foi de 14,6% (Fig. 4) (Moreira & Brochier-Armanet, 2008)

O genoma apresenta duas regiões repetidas invertidas de 900 bp nas regiões terminais podendo portanto circularizar o seu genoma e apresentam um conteúdo GC de 28%. Como característica única, esses vírus também apresentam proteínas preditas como sendo funcionais na tradução (Raoult et al., 2004; Abergel et al., 2007).



**Figura 3 – Representação do genoma de APMV** - Indicação da região de genes codificadores e o transcriptoma representando em branco os genes não expressos e em vermelho os genes altamente expressos na fita F e azul na fita reversa. **Fonte:** Legendre et al., 2011



**Figura 4- Distribuição genômica de 128 ORFs conservados de mimívirus.** O número de homólogos entre os três domínios é mostrado. **Fonte:**Moreira & Brochier-Armanet, 2008.

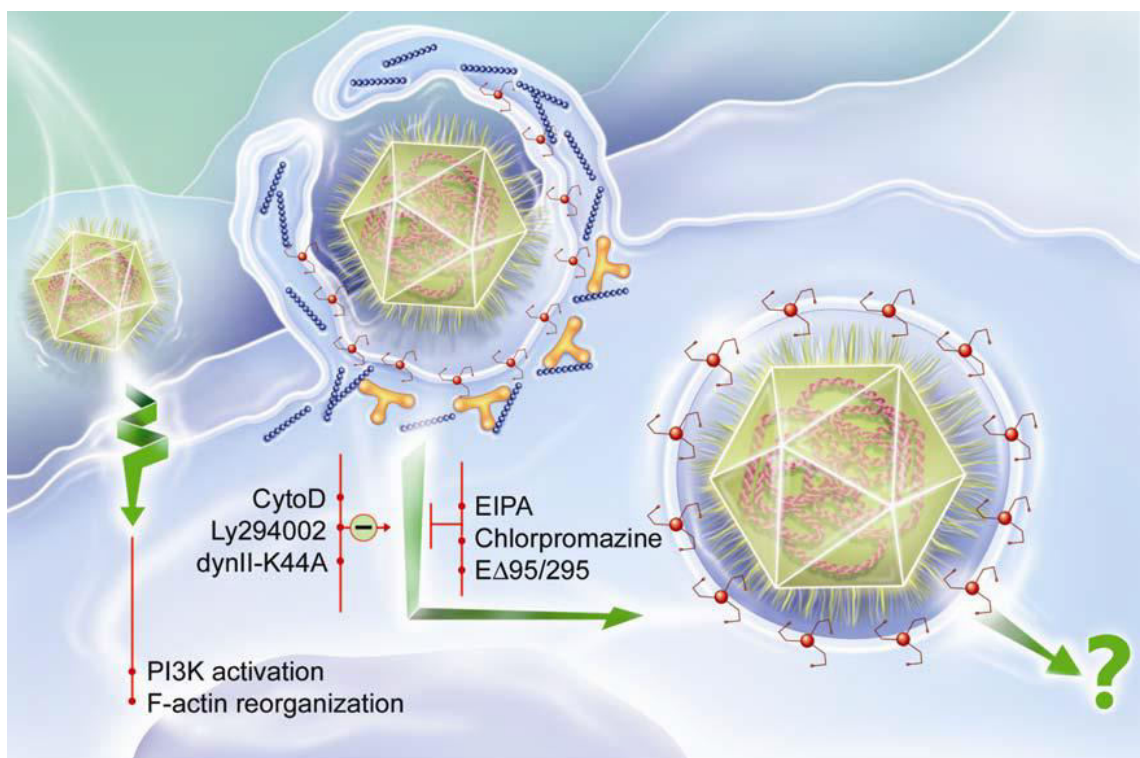
### 1.2.1.3 Ciclo de multiplicação

O ciclo de multiplicação dos mimivírus possui muitas semelhanças com o dos poxvírus e outros NCLDVs, como por exemplo, um ciclo inteiramente citoplasmático, com presença de fábricas virais bem delimitadas e divisão temporal de produção de proteínas. A correlação entre o número de partículas virais infecciosas e as fábricas virais indica que cada cerne origina sua própria fábrica, e que estas se mantêm ao redor destes sítios. Quando as fábricas se expandem em decorrência da replicação extensa do genoma, podem eventualmente formar uma grande fábrica por fusão (Mutsafi et al., 2010). A penetração do vírus nas células parece acontecer principalmente por fagocitose e sem a necessidade de receptores celulares específicos (Ghigo et al., 2008).

Devido ao fato de que os mecanismos da fagocitose dos fagócitos humanos são mais conhecidos do que os mecanismos de fagocitose de amebas, e também são mais estudados no contexto da virologia, apenas o mecanismo de fagocitose do

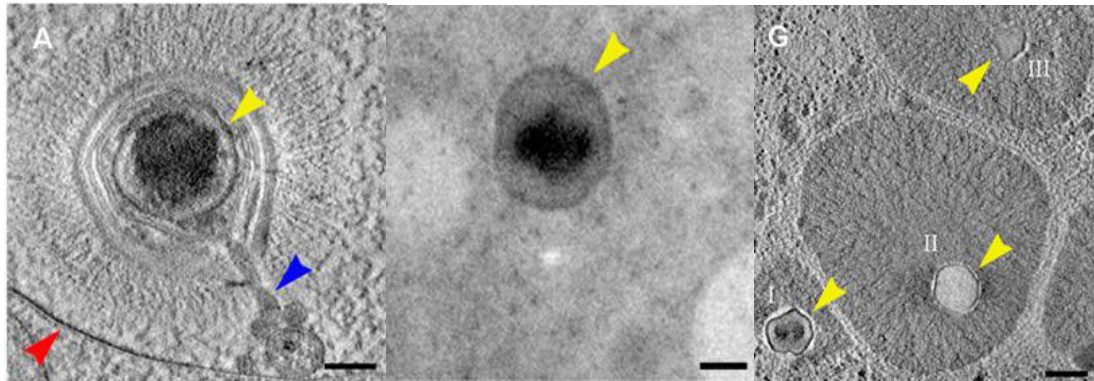
mimivírus por fagócitos humanos será discutido a seguir. Contudo, a fagocitose em amebas é um processo semelhante que também permite a penetração do APMV. A definição de fagocitose, no contexto imunológico de animais vertebrados, seria um processo restrito a fagócitos profissionais, consistindo na incorporação de partículas maiores do que 500 nm, microrganismos, restos celulares ou células apoptóticas. O processo é iniciado pelas interações com receptores celulares como receptores de manose, receptores Fc e receptores de lectinas com seus ligantes que estão presentes na superfície da partícula, direcionando a internalização por um mecanismo actina independente, requerendo a dinamina II (Le Blanc et al., 2005).

Durante o processo de fagocitose do vírus no macrófago ocorre a reorganização da actina do citoesqueleto e a ativação das fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), requerendo dinamina II (Fig. 5) (Ghigo et al., 2008)



**Figura 5 - APMV penetra em macrófagos por um processo de fagocitose.** Após ligação com macrófagos, o APMV induz a ativação de PI3K e polimerização de F-actina. Partículas são englobadas por um mecanismo envolvendo F-actina (azul), clatrina (vermelho) e dinamina-II (amarelo) **Fonte:** Ghigo et al., 2008

Após a penetração mediada por fagossomo (Fig. 6), o cerne viral contendo o genoma é liberado no citoplasma do hospedeiro (Mutsafi et al., 2010).



**Figura 6 – Cernes de mimivírus em diferentes estágios da infecção observados em tomografia eletrônica. A.** Partícula viral em um fagossomo (seta vermelha) e a ocorrência de desnudamento inicial e protusão da membrana interna (seta azul) **B.** Cerne livre (seta amarela) (Escala, 100 nm.) **C.** Três fábricas citoplasmáticas virais precoces envolvendo três cernes em vários estágios de liberação contendo cernes parcialmente (I) e completamente vazios (II e III) (Escala, 300 nm). **Fonte:** Mutsafi et al. 2010

A etapa de transcrição viral é iniciada no cerne, no qual são sintetizados mRNAs virais *de novo*, que então são entregues em sítios citoplasmáticos. A subsequente liberação do genoma viral no citoplasma é acompanhada por uma grande replicação de DNA viral que ocorre em torno dos cernes. Em seguida as fábricas virais são geradas (Mutsafi et al., 2010).

Após a expressão de genes tardios, proteínas estruturais são sintetizadas, dando início ao processo de morfogênese viral. O empacotamento do DNA de mimivírus é semelhante ao descrito parapoxvírus, ocorrendo em capsídeos pré-formados (Mutsafi et al., 2010). Semelhantemente aos poxvírus, os mimivírus adquirem sua membrana de membranas celulares intermediárias que acumulam nas fábricas virais citoplasmáticas (Suárez et al., 2013).

#### 1.2.1. 4 Espectro de hospedeiros

As amebas do gênero *Acanthamoeba* são os únicos hospedeiros reservatórios confirmados do APMV. Os APMV foram descobertos em *Acanthamoeba polyphaga* e já foram cultivados em laboratório em *Acanthamoeba*

*castellanii*, *Acanthamoeba griffini*, *Acanthamoeba lenticulata*, *Acanthamoeba quina*, dentre outras espécies do gênero (Claverie et al., 2009). Porém, experimentos *in vitro* indicaram que APMV é capaz de infectar macrófagos humanos, e murinos, além de PBMCs humanos (Ghigo et al., 2008; Silva et al., 2013).

Boyer e colaboradores em 2011 verificaram que o APMV possui vários genes não essenciais para a multiplicação em amebas, pois após múltiplas passagens em amebas *in vitro*, o vírus perdeu 17% de seu genoma, incluindo genes codificadores das proteínas presentes nas fibras de superfície. Outros vírus gigantes de DNA conhecidos, como os poxvírus, também possuem muitos genes não essenciais para os hospedeiros conhecidos mas que são essenciais para a multiplicação em outros hospedeiros. Essa redução no genoma do APMV pode ser interpretada como um indício de transferência gênica horizontal entre outros organismos que infectam as amebas e o APMV (Boyer et al., 2011). Porém esta redução no genoma também poderia indicar que o APMV pode possuir outros hospedeiros, ainda desconhecidos, para os quais estes genes perdidos sejam essenciais.

Adicionalmente, estudos indicam ainda esponjas, corais e algas como hospedeiros em potencial dos vírus da família *Mimiviridae* (Claverie et al., 2009; Monier et al., 2008). Além disso, estudos envolvendo o sequenciamento do sangue de bovinos indicaram a presença de DNA de mimivírus, assim, é possível que além de humanos e camundongos, os mimivírus sejam capazes de infectar outros mamíferos (Hoffman et al., 2011). Assim, o mecanismo de penetração por fagocitose, sem a necessidade de receptores celulares específicos, juntamente com o poderoso arsenal de genes que o APMV e outros membros da família *Mimiviridae* parecem possuir, poderiam permitir um amplo espectro de hospedeiros (Claverie et al., 2009; Monier et al., 2008; Hoffmann et al., 2011).

Mais recentemente, foi isolado um mimivírus também do trato intestinal de um sanguessuga *Hirudo medicinalis* (Boughalmi et al., 2013a).

### **1.2.1.5 Possível associação com infecções humanas**

Como mencionado anteriormente, o AMPV foi descoberto em 1992, infectando a ameba *Acanthamoeba polyphaga* em uma torre de resfriamento de água após um surto de pneumonia em um hospital em Bradford, na Inglaterra (Raoult et al., 2002). Como 50% dos casos de pneumonia não possuem agentes etiológicos conhecidos, nos últimos 5 anos iniciaram-se estudos para averiguar a possível associação de APMV com infecções humanas (La Scola et al., 2005; Raoult et al., 2006; Berger et al., 2006; Larcher et al., 2006; Khan et al., 2007; Dare et al., 2008; Vincent et al., 2009; Costa et al., 2012; Colson et al, 2013b).

O trabalho pioneiro nesta área foi desenvolvido na França em 2005, e envolveu testes para a detecção de anticorpos anti-mimivírus, como microimunofluorescência e soroneutralização em amostras de soro de 376 pacientes acometidos por pneumonia, sendo 212 amostras oriundas de ambulatórios e 255 obtidas de pacientes hospitalizados, e o soro de pacientes saudáveis foi usado como controle. Também foram testadas amostras de lavado bronqueoalveolar dos pacientes por PCR para detecção de DNA de mimivirus. Dos 511 soros de pacientes controles, 12 (2,3%) apresentaram títulos substanciais de anticorpos anti-mimivírus. Todavia, o número de soropositivos entre os pacientes acometidos por pneumonia (376) foi maior, cerca de 10% (36 pacientes). A maior soropositividade para mimivírus foi encontrada em pacientes idosos residentes em casas de repouso e em casos de re-internação por pneumonia. Idade e diabetes melitus também foram apontados como fatores de risco. DNA viral foi detectado por PCR em amostras de lavado bronqueoalveolar de alguns pacientes (La Scola et al., 2005). Em uma infecção laboratorial de um técnico que trabalhava com altos títulos do vírus e que apresentou pneumonia (Fig. 7) a detecção viral foi feita por Western blot bidimensional (Raoult et al., 2006). Estudos de Berger e colaboradores, 2006 e Vincent e colaboradores, 2009 também apresentaram evidências de associação do vírus com infecções respiratórias empregando técnicas sorológicas.

Em 2013, Bousbia e colaboradores também relataram o aumento de soropositividade em pacientes de centros de terapia intensiva, especialmente nas

internações de longa duração, e mais frequentemente em pacientes com episódios de pneumonia em relação aos controles.

Todavia, Larcher e colaboradores (2006), Dare e colaboradores (2008) e Costa e colaboradores (2012), Vanspauwen e colaboradores (2012 e 2013), empregando técnicas moleculares, não conseguiram reproduzir os resultados de La Scola e colaboradores em 2005 em diferentes regiões do globo.

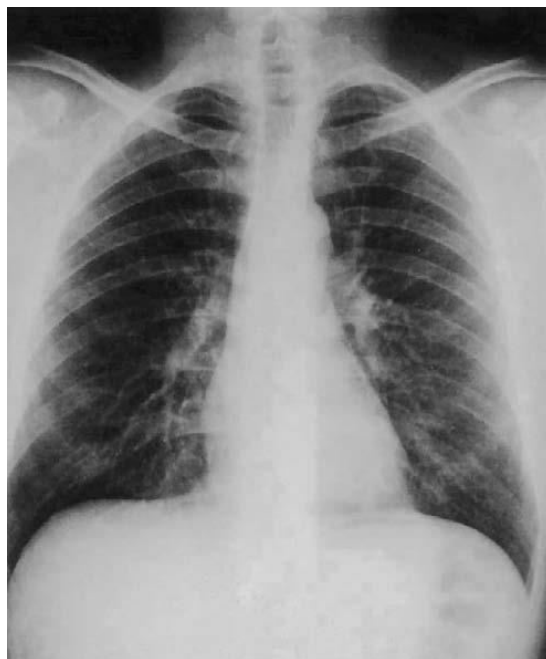
Estudos em modelos animais, corroboraram a teoria de que os mimivírus podem ser agentes causadores de pneumonias. Camundongos infectados com altas doses virais pela via intra-cardíaca desenvolveram pneumonia grave (Khan et al., 2007). Entretanto, esse estudo não utiliza APMV inativado como controle e inocula doses muito altas do vírus por uma via pouco usual. Assim, é possível que a pneumonia desenvolvida pelos camundongos tenha sido causada pela própria presença da partícula viral, ao invés do potencial patogênico do vírus.

Segundo Raoult e colaboradores, o APMV preenche o postulado de Koch, uma vez que foi encontrado em casos de pneumonia (anticorpos e DNA), e não foi encontrado em casos controles, que causa pneumonia em camundongos em condições experimentais e que foi re-isolado dos camundongos experimentalmente infectados (Raoult et al., 2007). Contudo, ainda é controversa a relação causativa do APMV com a pneumonia, uma vez que grande parte dos estudos não conseguiu amplificar DNA de APMV a partir de lavado bronqueo-alveolar humano e testes sorológicos parecem ter sorologia cruzada com outros agentes biológicos.

Em 2013, Raoult e colaboradores (Saadi et al. 2013a) isolaram e sequenciaram o primeiro mimivírus denominado LBA111 de uma amostra bronco aspiração de uma paciente idosa com pneumonia. O genoma viral completo foi sequenciado e revelou que o vírus pertence ao clado C da família *Mimiviridae* como o *M. chilensis* e Courdo11. Outro isolamento foi feito a partir de fezes de uma paciente com pneumonia e o isolado foi denominado Shan virus (Saadi et al, 2013 b).



Os virófagos, que são vírus que infectam vírus, e foram encontrados em mimivírus também têm sido relacionados com quadros de doenças não esclarecidas como no caso de pacientes que comeram peixe cru e apresentaram uma elevação nos títulos de anticorpos contra antígenos de virófagos (Parola et al., 2012).



**Figura 7** – Radiografia de pulmão de técnico de laboratório que desenvolveu um quadro de pneumonia após contato com altos títulos de mimivírus. **Fonte:** Raoult et al., 2006.

Outros aspectos relacionados com doença em humanos também vem sendo relatados na literatura, como o modelo murino experimental de inoculação de colágeno viral, codificado pela ORF L71 e presente na superfície de partículas de mimivírus, e sua associação com a produção de anticorpos anti-colágeno II e o desenvolvimento de artrites (Shah et al, 2013). Por fim, Silva e colaboradores (2013) demonstraram que APMV é capaz de modular negativamente a expressão de RNAs mensageiros de alguns genes estimulados por IFN (ISG), como 6/16 e Mxa, em PBMCs humanos infectados. Este resultado seria um forte indício de co-evolução de APMV e vertebrados, uma vez que mecanismos de evasão envolvendo o sistema IFN usualmente resultam de uma longa e intensa corrida evolutiva envolvendo os vírus e seus hospedeiros.

### 1.2.2 Ecologia

Os vírus são certamente os organismos mais ubíquos da natureza, pois se todas as espécies virais forem consideradas, eles infectam todos os organismos vivos conhecidos, de bactérias à baleias e até mesmo outros vírus (La Scola et al., 2008), existindo de ambientes tropicais aos círculos polares. Como resultado, o ciclo biogeoquímico e as populações de todos os organismos vivos sofrem fortes influências dos vírus. Estima-se que, apenas nos oceanos existam  $10^{31}$  partículas virais, milhões por cada microlitro de água do oceano, e que esses vírus causem a morte de cerca de 20% da biomassa marinha diariamente. Na superfície de corpos d'água é estimado que os bacteriófagos causem a lise de 20 a 40% dos procariotos (Suttle, 2005).

De forma análoga aos bacteriófagos, os phycodnavírus são responsáveis por controlar florações de algas e pensa-se que os mimivírus podem ser responsáveis por controlar a população de amebas. Esse controle natural das amebas poderia também ser importante na ciclagem do carbono e de outros nutrientes (Yau et al., 2011). Santini et al., 2013 isolaram e sequenciaram um vírus de uma espécie de fitoplacton *Phaeocystis globosa*, que não apresentou relação filogenética com outros vírus de micro algas. Novos isolamentos em larga escala no meio ambiente na Tunísia identificaram dentre outros, isolados de ambientes aquáticos hipersalinos (Boughalmi et al., 2013b).

A descoberta de virófagos, nome dado por associação com os bacteriófagos previamente conhecidos, surpreendeu os virologistas e reaqueceu a discussão acerca dos vírus serem ou não organismos vivos. Os virófagos foram detectados primeiramente associados aos mamavírus, uma amostra de mimivírus, e em seguida, dois outros virófagos foram descobertos parasitando phycodnavírus em lagos antárticos (Scola et al., 2008; Yau et al., 2011; Fischer & Suttle, 2011).

### 1.2.3 Evolução

A descoberta dos NCLDV reavivou as discussões sobre a evolução dos vírus e sua origem, bem como sobre a diferenciação entre vírus e organismos vivos (Yamada, 2011). Os vírus gigantes têm sido descobertos principalmente em ambientes aquáticos, e o seu genoma e as suas propriedades metabólicas como a participação em fotossíntese e apoptose, tem desafiado a linha dos conceitos relativos a vírus e células (Culley, 2011). Uma das principais características dos mimivírus, é a presença de genes relacionados com o metabolismo traducional, o que era até então uma marca exclusiva de organismos celulares (Legendre et al., 2012).

O estudo de uso de códons e de aminoácidos dos mimivírus mostraram que estes são dissimilares em relação ao hospedeiro *Acanthamoeba castellanii* e são muito correlacionadas com o alto conteúdo de A e T do genoma dos mimivírus. (Colson et al, 2013a). Os mimivírus codificam 5 genes ortólogos além das aminoacyl-tRNA synthetases para a tradução, e os fatores de terminação de tradução combinam elementos de eucariotos e de bactérias (Jeudi et al, 2012).

Estudos recentes também indicaram a existência de um sistema de glicosilação nos mimivírus, completamente independente da ameba hospedeira. Análises filogenéticas indicaram que o gene L136, uma aminotransferase, que catalisa a formação de UDP-4-amino-4,6-dideoxi-d-glucose, não foi adquirido por transferência horizontal recente (Piacenteal, 2012).

Em relação ao colágeno, uma das proteínas mais abundantes em seres vivos, foi descrito um novo tipo de glicosilação nos mimivírus, mostrando pela primeira vez que modificações pós-traducionais do colágeno não estão restritos aos domínios da vida canônicos (Luther et al., 2011).

Boyer et al., 2010 propuseram a existência do quarto domínio da vida, após os estudos filogenéticos de proteínas de processamento de DNA e de tradução. O

estudo filogenético dos genes demonstrou que há genes que são encontrados nos táxons *Mimiviridae*, *Eukarya* e *Amoebazoa*.

Moreira e Brochier-Armanet (2008) em estudos anteriores haviam concluído que a maioria dos genes de mimivírus com homólogos em organismos celulares foram adquiridos por transferência horizontal, o que não sustentaria a definição de um novo domínio. Além disso, Williams e colaboradores em 2011, utilizando técnicas mais refinadas de filogenia, sugerem que o 4º Domínio não pode ser sustentado.

Colson & Raoult (2012), postularam que em condições alopátricas em laboratório com subcultivo de 150 passagens em culturas de amebas da espécie *Acanthamoeba polyphaga* “germ free” a evolução dos mimivírus seja Lamarckiana, porque as modificações fenotípicas precedem as modificações genotípicas. De 960 genes presentes na primeira geração, 77% não sofreram alterações, 23% apresentaram variação nucleotídica e 10% sofreram inativação.

### 1.3 Virófagos

Virófagos são todos os vírus que se aproveitam da maquinaria de multiplicação produzida por outros vírus para poderem se multiplicar, promovendo além disso, uma diminuição nas taxas de multiplicação e infecciosidade dos vírus hospedeiros (La Scola ET al., 2008).

O primeiro virófago descoberto foi o *Sputnik virophage* (SPNV) que reacendeu uma das discussões mais antigas sobre os vírus: seriam os vírus vivos? (Pearson, 2008). Como dito anteriormente, o SPNV foi descoberto parasitando o mamavírus, uma amostra de AMPV (La Scola et al., 2008). O SPNV não consegue se multiplicar em *Acanthamoeba castellanii* não infectada com um vírus da família *Mimiviridae*.

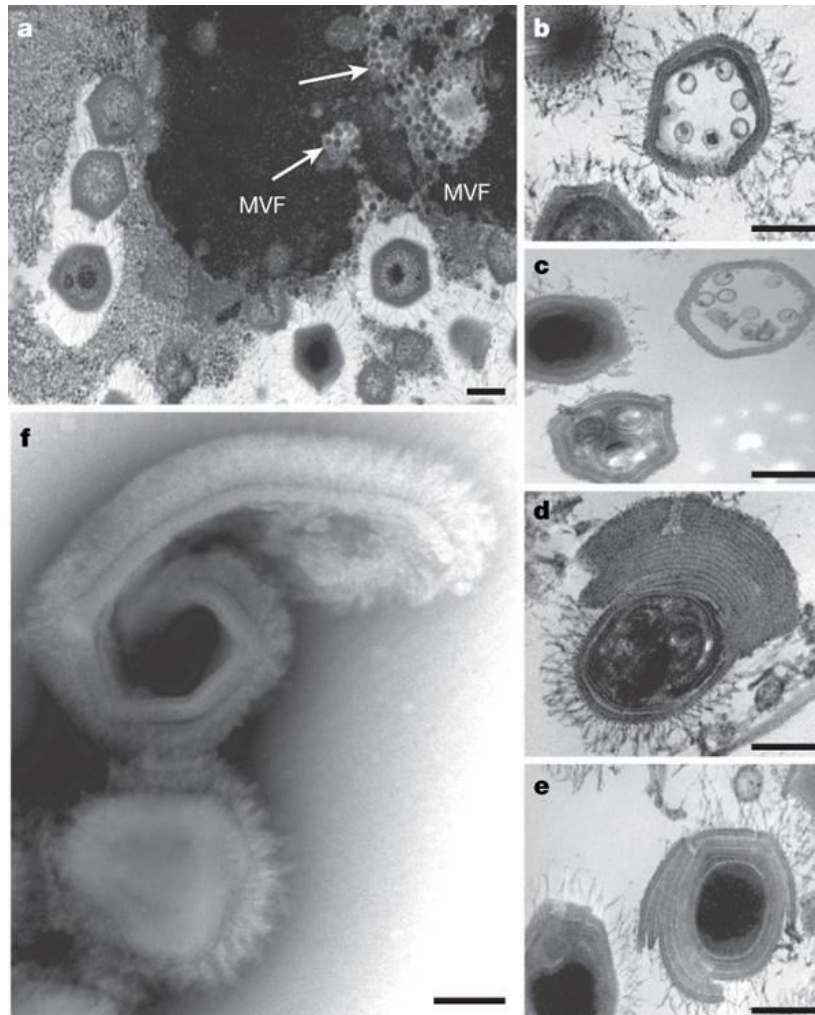
Outros virófagos também já foram identificados em vírus gigantes de outras famílias. Os *Organic lake virus* são virófagos que parasitam phycodnavirus (vírus

que infectam algas) e controlam assim o crescimento de algas prasinófitas em lagos antárticos hiperssalinos e de água doce (Yau et al, 2011). O mavirus é um virófago que parasita *Cafeteria robergensis*, e acredita-se que ancestrais desse virófago sejam responsáveis pelo transposon Maverick/Polinton, que codificam para até 20 proteínas e são encontrados em eucariotos como protistas, fungos e animais (Fischer, 2012). Embora o conceito de virófago tenha sido criticado duramente por alguns autores (Krupovic & Cvirkaite-Krupovic, 2012), que acreditam que esses sejam apenas novos vírus satélites, a maioria dos autores concorda que esses vírus são diferentes dos vírus satélites canônicos (Fischer & Suttle, 2011), por diminuírem a infectividade do vírus hospedeiros, deixando-o “doente”. Além disso, foi proposto que o ciclo dos virófagos é diferente do ciclo de vírus satélites.

A infecção de mamavírus com SPNV (Fig. 8) causa diversas anormalidades nas partículas dos vírus gigantes. Algumas partículas do virófago puderam inclusive ser visualizadas por microscopia eletrônica dentro do capsídeo de uma partícula de mamavírus durante a morfogênese. Também foi observada a formação de camadas semelhantes às de cebola no capsídeo do vírus gigante, a presença de virófagos na fábrica do vírus gigante e fragmentos de fibras de mamavírus soltas do capsídeo. (La Scola et al., 2008).

Gaia et al, 2013 relataram que o procedimento do uso de vírus gigantes auxiliar seria uma forma de descobrir novos virófagos, já que todas as amostras de mimivírus testadas foram capazes de multiplicar os virófagos, com exceção das amostras subcultivadas 150 vezes que perderam as fibrilas.

Formas de virófagos integradas no genoma de vírus gigantes também tem sido descritas expandindo a complexidade do mobiloma de mimivírus. Estas formas foram chamadas de transpovirons e apresentam 6 a 8 genes preditos (Desnues et al, 2012)



**Figura 8– Microscopia eletrônica de mamavírus infectado com Sputnik virophage (SPNV)–**  
**a.**Fábrica viral de mamavírus com partículas virais em diferentes estágios de maturação; agregados de SPNV são observados na fábrica viral **b.** SPNV dentro dos capsídeos de mamavírus **c.** Partículas defectivas **d-f** Co-infecção de mamavírus e SPNV resulta em morfologia alterada do vírus, com acúmulos de membrana em um lado (**d**), ao redor da partícula (**e**) ou partículas abertas (**f**). Escala 200 nm. **Fonte:** La Scola et al., 2008

#### 1.4 Amebas do gênero *Acanthamoeba*

Amebas de vida livre do gênero *Acanthamoeba* são fagócitos unicelulares que se alimentam de microrganismos no ambiente. As amebas fagocitam partículas maiores que 0.5 micra (Raoult & Boyer, 2010). Dentro do gênero são descritas mais de 20 espécies, porém, atualmente a identificação tem sido realizada por

genotipagem. São descritos 17 genótipos, sendo o T4 o mais comum. Castellanii (1930) identificou amebas em cultura de fungos do gênero *Cryptococcus*, e por se tratar de uma espécie diferente de amebas do gênero *Acanthamoeba*, a espécie foi nomeada *Acanthamoeba castellanii*. Os trofozoítos dessas amebas são pleomórficos, produzem pseudópodes do tipo acantopódios e possuem tamanho de 13,5 a 22,5  $\mu$ l. Os cistos dessas amebas possuem paredes duplas com cerca de 9 a 12  $\mu$ m. A forma de trofozoíto é responsável pela captura de alimento (principalmente bactérias, mas também leveduras e outros protistas, como algas) por meio de fagocitose ou pinocitose; e a forma de cisto, é uma forma celular de resistência (Bowers & Korn, 1969). As amebas de vida livre do gênero *Acanthamoeba* podem representar sérios riscos à saúde humana, sendo sabidamente um agente etiológico causador de encefalite e ceratite, tendo sido isolados de hospitais (Costa et al., 2010)

As amebas do gênero *Acanthamoeba* podem sobreviver em ambientes diversos e já foram isoladas de sistemas de abastecimento de água, piscinas, em água engarrafada, água do mar, água de lagoa, água de poças, lagos de água doce, lagos de água salgada, água de rios, garrafas de água destilada, dutos de ventilação, interface ar-água e unidades de ar condicionado, esgoto, compostagem, sedimentos, do solo, praias, vegetais, ar, instrumentos cirúrgicos, lentes de contato, hospitais, unidades de hemodiálise, diversos tecidos e secreções humanas, e até da atmosfera, demonstrando a natureza ubíqua das amebas. Portanto, não é uma surpresa que a maioria dos humanos saudáveis apresente anticorpos contra amebas do gênero *Acanthamoeba* (Brindley et al., 2009).

As amebas do gênero *Acanthamoeba* também são hospedeiros para diversos patógenos intracelulares, como bactérias do gênero *Legionella* e fungos do gênero *Cryptococcus*. Esses patógenos são denominados patógenos associados à amebas (PAAs). Mais recentemente os APMV foram identificados como PAAs infectando amebas do gênero *Acanthamoeba*. Assim, essas amebas têm grande importância como hospedeiros naturais do APMV. Embora haja alguns estudos investigando o APMV como um agente etiológico hipotético de pneumonia, as implicações da

interação vírus-ameba para a virulência das amebas ainda não foram testadas pela comunidade científica.



## 2.JUSTIFICATIVA

A existência de vírus gigantes teve pouco destaque em estudos e pesquisas científicas na primeira metade do século XX. Com exceção dos poxvírus, que já eram conhecidos previamente, apenas em 1970 foram descobertos os bacteriófagos gigantes e, em 1980, os phycodnavírus (ICTV, 2012). Apesar de seu extraordinário tamanho e da possibilidade de diagnóstico e identificação no nível de família de alguns deles por microscopia óptica, a importância ecológica desses vírus só foi reconhecida no século XXI (La Scola et al., 2003; Arslan et al., 2011; La Scola et al., 2010).

Como foi mencionado anteriormente, os vírus da família *Mimiviridae* possuem os maiores e mais complexos vírus já descritos. O seu genoma complexo e as suas propriedades metabólicas distintas, como a presença de genes do maquinário de tradução, tornaram estes vírus objetos de grande interesse no estudo da evolução e ecologia dos vírus. Estudos dos últimos cinco anos apontam estes vírus também como agentes etiológicos hipotéticos de pneumonia; resultando em uma possível importância médica (La Scola et al., 2005; Berger et al., 2006; Raoult et al., 2006; Khan et al., 2007; Vincent et al., 2009).

Além dos mimivírus, vírus provavelmente pertencentes a novas famílias de vírus gigantes foram recentemente descobertos com a utilização de técnicas que permitem o isolamento ou sequenciamento dos vírus gigantes. As técnicas utilizadas anteriormente consistiam basicamente na filtração e tentativa de isolamento viral. Contudo, os vírus gigantes, que possuem de 150 a 800 nanômetros eram retidos nos filtros e descartados (Claverie, 2005).

Considerando a grande importância biológica e evolutiva dos vírus gigantes, e a possível importância ecológica e médica destes vírus, faz-se necessário a prospecção de vírus gigantes em águas brasileiras. Com o objetivo de preencher essa lacuna, esse trabalho teve como proposta de realizar uma prospecção de vírus gigantes no Rio Negro, Amazonas, Brasil, e caracterizar os vírus encontrados

biológica e molecularmente; uma vez que a Amazônia representa um dos biomas mais biodiversos e conservados do Brasil, constitui o ambiente ideal para esses estudos.

### **3.OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Prospectar vírus gigantes em águas do Rio Negro, AM, Brasil

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Isolar vírus gigantes do Rio Negro, AM, Brasil;
- Caracterizar os vírus morfológicamente;
- Identificar molecularmente os vírus isolados
- Fazer a análise filogenética dos vírus isolados

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Sistema celular

#### 5.1.1 *Acanthamoeba castellanii* (ATCC 30010)

Amebas de vida livre foram as células utilizadas para a multiplicação de APMV e de outros vírus gigantes isolados. Para o cultivo das amebas, amostras de *Acanthamoeba castellanii* (ATCC 30010), cedidas pelo Laboratório de Amebíases (Departamento de Parasitologia do ICB/UFMG), foram inoculadas em garrafas de cultivo celular (T25) (TPP, EUA) contendo meio PYG (anexo 2) acrescido com 7% de soro fetal bovino (SFB) (Cultilab, Brasil), 200 U/mL de penicilina (Cristália, Brasil), 50 µg/mL de gentamicina (Sigma, EUA) e 2,5 µg/mL de anfotericina B (Sigma, EUA), e mantidas à temperatura ambiente até o completo desencistamento das amebas, que ocorre aproximadamente no quarto dia. Após o desencistamento e crescimento confluyente (90%), as amebas foram submetidas a banho de gelo por aproximadamente 5 minutos, visando a liberação dos trofozoítos aderidos no fundo das garrafas. Em seguida, uma amostra da solução contendo meio PYG e amebas foi utilizada para quantificação do número de trofozoítos em câmara de Neubauer. A suspensão foi centrifugada a 900g por 5 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o sedimento homogeneizado com aproximadamente 5mL de tampão fosfato salino (PBS, do inglês *Phosphate Buffered Saline*). A centrifugação foi novamente realizada e o sedimento foi homogeneizado em 10 mL de meio PYG contendo 7% SFB. A partir do conteúdo diluído, um total de aproximadamente  $10^5$  amebas foi distribuído em novas garrafas de cultivo celular (T25), e mantidas a 32°C completamente vedadas, por aproximadamente 48 horas. O cultivo de *Acanthamoeba castellanii* foi utilizado para os testes de isolamento viral, titulação e para protocolos de purificação. As amebas foram testadas para ausência de mimivírus por reação em cadeia da polimerase (PCR).

## **5.2 Amostra padrão de vírus**

A amostra padrão de *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV) que foi utilizada foi gentilmente cedida pelos Dr. Didier Raoult e Dr. Bernard La Scola, ambos da Unidade de Rickettsias, da Escola de Medicina da Universidade de Marsseille, França. Esta amostra foi obtida a partir de uma torre de resfriamento de um hospital em Bradford (Inglaterra) em 1993, e seu isolamento e caracterização foi feito em 2003 (La Scola et al., 2003). APMV foi utilizado como amostra controle em testes moleculares e biológicos.

## **5.3 Coleta, prospecção e isolamento de novos vírus**

A região da Amazônia brasileira foi selecionada para realização dos experimentos de isolamento de vírus gigantes. Embora a biodiversidade da Amazônia seja em parte conhecida não há estudos demonstrando a presença de vírus gigantes. As amostras de água foram coletadas no Rio Negro, AM, Brasil, um afluente do Rio Amazonas, em outubro de 2011. O rio é composto de água ácida devido a presença de grandes quantidades de substâncias orgânicas dissolvidas originadas de um processo de fluxo de água da chuva, que carrega ácidos orgânicos de decomposição de resíduos de vegetação, resultando na cor negra. Foram feitas coletas em 35 pontos ao longo de um trajeto de 65 km partindo da cidade de Manaus (3°6'S 60°1'W) (Fig. 9). As amostras de água foram coletadas superficialmente, próximas a regiões com plantas aquáticas e povoada por tribos indígenas e população ribeirinha. As amostras de água foram coletadas em microtubos de 1,5ml e armazenadas a 4°C.

Para o isolamento foi preparado o meio de enriquecimento água-arroz, que foi feito por autoclavação de 40 grãos de arroz em 1 litro de água. De cada amostra coletada, 500µl foram adicionados a 4,5ml de meio de enriquecimento água-arroz e armazenados durante 20 dias em local escuro, à temperatura ambiente (TA). Após este período, 5000 amebas foram acrescentadas à amostra enriquecida que, em

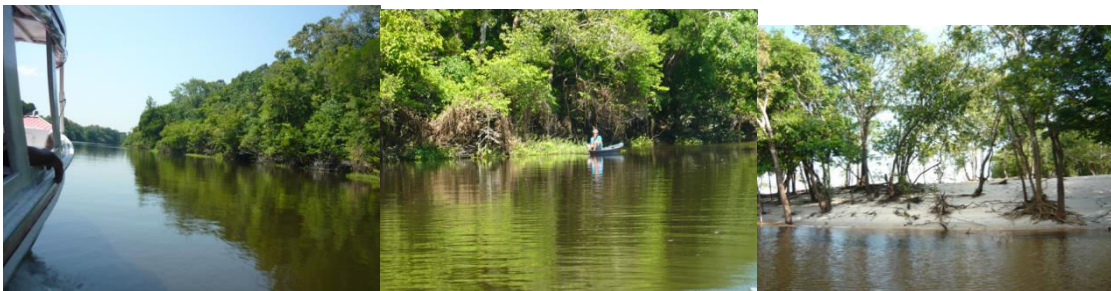
seguida, foi incubada por mais 10 dias em local escuro, a TA (Arslan et al., 2011). As amostras enriquecidas foram então filtradas em filtros de 1,2 micrômetros (Millipore, EUA) para a retirada de impurezas e em filtros de 0,2 micrômetros para a retenção de vírus gigantes. O filtro de 0,2 micrômetros foi então depositado em um microtubo com 1ml de PBS para eluição dos vírus.

Para o PCR em tempo real foram feitos “pools” das amostras coletadas de 5 em 5 amostras com localização contígua.

A



B



**Figura 9 – Pontos de Coleta, Rio Negro, AM, Brasil** – Pontos de coleta no Rio Negro destacados em amarelo. A cidade de Manaus é a região mais clara da imagem. B. Detalhes de alguns pontos de coletas. **Fonte:** Google Earth.

#### **5.4 Multiplicação de vírus**

Para multiplicação viral, amostras de APMV e outros vírus gigantes isolados foram inoculadas na multiplicidade de infecção (m.o.i.) de 5 em garrafas T75 contendo monocamada de amebas da espécie *Acanthamoeba castellanii* apresentando cerca de 90% de confluência. Para isto, o meio das garrafas foi descartado, e a solução viral (em PBS) foi cuidadosamente adicionada sobre a monocamada. Após uma hora de adsorção, a monocamada foi adicionada de 25 mL de meio PYG contendo 7% SFB. As garrafas contendo os inóculos virais foram mantidas a 32°, completamente vedadas. Após três dias de incubação, o ECP foi avaliado, e o sobrenadante e os fragmentos celulares foram coletados para purificação viral. No caso dos vírus da família *Mimiviridae*, o efeito citopático (ECP) observado foi o arredondamento e lise das amebas.

#### **5.5 Purificação de vírus**

Para a purificação dos vírus gigantes, estes foram multiplicados em cultura celular de *Acanthamoeba castellanii* conforme descrito no item anterior. Após a observação de ECP, o sobrenadante e o sedimento de cultura celular foram coletados, transferidos para tubos de 50mL, e mantidos sob resfriamento. Após centrifugação de 900g, por 5 minutos, à 4°C, o sobrenadante foi transferido para um outro tubo, e o sedimento foi submetido a 3 ciclos de congelamento e descongelamento, visando a liberação de partículas eventualmente aprisionadas em trofozoítos não lisados. Ainda com este intuito, o lisado foi homogeneizado em 5-10mL de PBS e então submetido a dois ciclos de lise no homogeneizador do tipo “Douncer” (Wheaton, USA) por 50 vezes. Em seguida, o sobrenadante e o sedimento foram filtrados em filtros de 2 micrômetros (Millipore, EUA) para a retenção de lisado celular. Este filtrado foi então gotejado vagarosamente sobre 10 mL de uma solução de sacarose a 22% (Merck, Alemanha), em tubos próprios para a ultra centrifuga *Combi Sorvall Rotor AH-629va*. A amostra foi, então, ultra centrifugada em *Combi Sorvall* à 14000 rpm, por 30 minutos, entre 4°C e 8°C, para a sedimentação das partículas virais. Por fim, o sobrenadante foi descartado e o

sedimento homogeneizado em 500 µL de PBS. As alíquotas virais foram identificadas e estocadas à -80°C.

### **5.6 Titulação de vírus (Reed-Muench, 1938 )**

A titulação viral foi realizada pelo método da TCID<sub>50</sub>, e os cálculos feitos de acordo com o método Reed-Muench (1938). Placas de 96 poços foram preparadas contendo aproximadamente 40.000 amebas/poço, e adicionadas de 200µL de meio PYG 7% SFB. Após alcançar a confluência de 80%, as placas foram utilizadas em ensaios de titulação. Para isto, as amostras virais foram previamente diluídas em PBS de forma seriada decimal, variando desde a diluição 10<sup>-1</sup> até a diluição 10<sup>-9</sup>. Em seguida, o meio de cultura foi descartado dos poços, e cada diluição viral foi distribuída em colunas, em quadruplicatas, contemplando todas as diluições, em um volume total de 50 µL por poço. Após 1 hora de adsorção a 32°C, um total de 150 µL de meio PYG 7% SFB foi adicionado por poço. Uma quadruplicata de poços foi reservada como controle de viabilidade de amebas. Efeitos citopático como arredondamento, vacuolização, perda de motilidade e lise do trofozoíto foram monitorados diariamente em cada um dos poços. Após 3 ou 4 dias de incubação, foi feito o cálculo do título em TCID<sub>50</sub> por mililitro, segundo descrito por Reed-Muench, 1938.

### **5.7 Curva de ciclo único**

Os ensaios de perfis de infectividade foram feitos pela inoculação das amostras virais em uma m.o.i de 10 em monocamadas de amebas a aproximadamente 95% de confluência. Os vírus foram adsorvidos por 1 hora, lavados com PBS e as amebas foram incubadas a 32°C, por 30 min., durante 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 e 48 horas, e depois congeladas e descongeladas três vezes. As células foram desprendidas com auxílio de um raspador e essa suspensão foi utilizada para titulação viral de acordo com o protocolo descrito no item 5.6.



### **5.8 Inibição de multiplicação de APMV após infecção com virofagos**

*A. castellani* foram infectadas com APMV em uma m.o.i de 1 e superinfectadas com 100  $\mu$ l de virófago, não diluído e diluído  $10^{-9}$ . Após 72 hs de infecção, a infectividade (TCID<sub>50</sub>) foi determinada por observação de efeito citopático APMV em *A. castellanii*.

### **5.9 Reação em cadeia da polimerase (PCR)**

PCR para o gene da helicase foi feito utilizando iniciadores construídos a partir da sequência do gene da helicase do AMPV (Tabela 2). Dois grupos de iniciadores foram construídos, sendo um para PCR em tempo real e outro para PCR convencional. As condições salinas e enzimáticas que foram utilizadas para a PCR convencional foram de 2,0mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 mM de nucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 2U de Taq DNA polimerase (Promega, EUA), 2,0  $\mu$ l de tampão de Taq polimerase 10x, 4 mM dos iniciadores específicos, 2  $\mu$ l de amostra e água, totalizando 20  $\mu$ l de reação.

A PCR em tempo real foi feita utilizando mix comercial (Applied Biosystems, EUA), iniciadores específicos segundo La Scola, et al. 2008 (4mM de cada) e 1 $\mu$ l de amostra, totalizando 10 $\mu$ l de reação. As condições térmicas utilizadas para a amplificação do gene da helicase foram as utilizadas no programa padrão da máquina StepOne (Applied Biosystems, EUA), com temperatura de pareamento de 60°C. Todos os DNAs amplificados por PCR convencional deste estudo foram fracionados em eletroforese em gel de agarose a 1%, sob voltagem de 100 V e corados por Gel Red (Biotium, EUA). A PCR convencional foi utilizada para amplificação e sequenciamento direto do gene da helicase, enquanto a PCR em tempo real foi utilizada para fazer a triagem dos pools de amostras coletadas.

Tabela 2. Iniciadores para o gene da helicase de APMV e do capsídeo de SPV.

| Iniciadores | Sequência                        | Amplificados (pb)* |
|-------------|----------------------------------|--------------------|
| 1.MIMIRT1   | 5' ACCTGATCCACATCCCATAACTAAA 3'  |                    |
| 2. MIMIRT2  | 5' AGAAACCATTTGTTGATGAGGCC 3'    | 88 (1+2)           |
| 3. MIMISN   | 5' TTTTAGTTTTAATATTGTTTCGCCAT 3' | 357 (1+3)          |
| 4. SPNVF    | 5' TGGGATGGAGAACAAGCTGGTGG 3'    | 608 (4+5)          |
| 5. SPNVR    | 5' AGGTTGTCCTGAAACACCATTGA 3'    |                    |

\* Tamanho do amplificado em pb com a associação de iniciadores conforme indicado

### 5.10 Sequenciamento e análises das sequências

O sequenciamento foi feito pelo método de dideoxi descrito por SANGER et al., (1977) em sequenciador automático capilar Mega Bace1000 (Amersham/Pharmacia, Suécia), utilizando o Kit Dy Enamic ET Dye Terminator Cycle Sequencing Kit for Megabace e obedecendo as condições de reação e leitura indicadas pelo fabricante.

Para cada fragmento foram feitas 12 reações de sequenciamento, três com cada um dos iniciadores. As seqüências obtidas foram sobrepostas e o consenso foi obtido utilizando a plataforma Asparagin-Cenargen (EMBRAPA, 2010). As seqüências obtidas foram comparadas com as depositadas no banco de dados do "National Center for Biotechnology Information" através do programa BLAST 2.0 (<http://www.ncbi.nlm.gov/BLAST>.- Basic Local Alignment Tool (ALTSUCHL et al, 1990). As seqüências nucleotídicas foram analisadas pelo programa BLAST N e as de aminoácidos serão analisadas pelo programa BLAST X. As seqüências de nucleotídeos e de aminoácidos foram analisadas e utilizadas para a construção de árvores filogenéticas utilizando o programa MEGA 4.0 (KUMAR et al., 1994).

### **5.11 Microscopia Eletrônica de Transmissão**

Amebas da espécie *Acanthamoeba castellanii* foram infectadas na m.o.i de 10 com AMPV ou SMBV. Amebas não infectadas foram utilizadas como controle. Após 7 horas de infecção as amebas foram lavadas com PBS duas vezes e fixadas com glutaraldeído tipo 1, 2,5% por uma hora à TA. A monocamada de amebas foi retirada utilizando um raspador e centrifugada a 900g por 5 minutos para formação de sedimento, que foi transferido para um novo microtubo e 1 ml de tampão fosfato pH 7,4 foi adicionado. As secções ultrafinas foram feitas pelo Centro de Microscopia da UFMG e observadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss-EM10.

### **5.12 Análise morfométrica**

Imagens de microscopia eletrônica foram analisadas com software *Image J*® para o cálculo dos tamanhos das estruturas virais.

### **5.13 Microscopia óptica**

As observações de microscopia óptica foram feitas em lamínas de vidro no microscópio biológico óptico invertido.

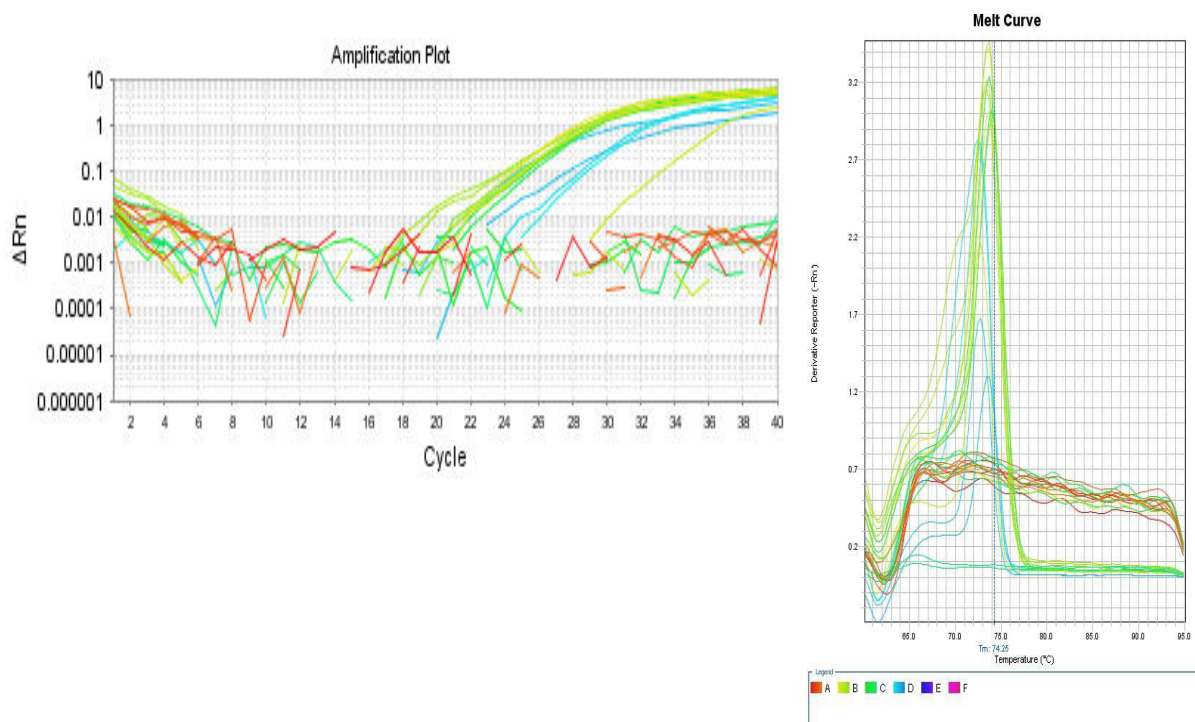
## 6. RESULTADOS

### 6.1 Identificação dos vírus por amplificação do DNA do gene da helicase viral

Foram coletadas 35 amostras de água. Destas amostras foram feitos pools de 5 e as reações foram feitas com 1 µl de amostra de água. Empregando-se os iniciadores para o gene da helicase viral foi feito o PCR em tempo real e 57% dos pools de amostras foram positivos, com “melting temperature” (TM) de aproximadamente 73°C, assim como o controle positivo onde foi utilizado o APMV (Fig.10). Nenhuma amplificação foi observada no controle negativo e no controle de amebas.

Tabela 3 – Triagem dos pools por PCR em tempo real

| Pools de amostras | PCR      | Isolamento        |
|-------------------|----------|-------------------|
| A1 – A5           | Positivo | Positivo ( 2 e 4) |
| A6 – A10          | Negativo | Negativo          |
| A11 – A15         | Positivo | Negativo          |
| A16 – A20         | Positivo | Negativo          |
| A21 – A25         | Negativo | Negativo          |
| A26 – A30         | Negativo | Negativo          |
| A31 – A36         | Positivo | Negativo          |
| <b>Total</b>      | <b>4</b> | <b>1</b>          |

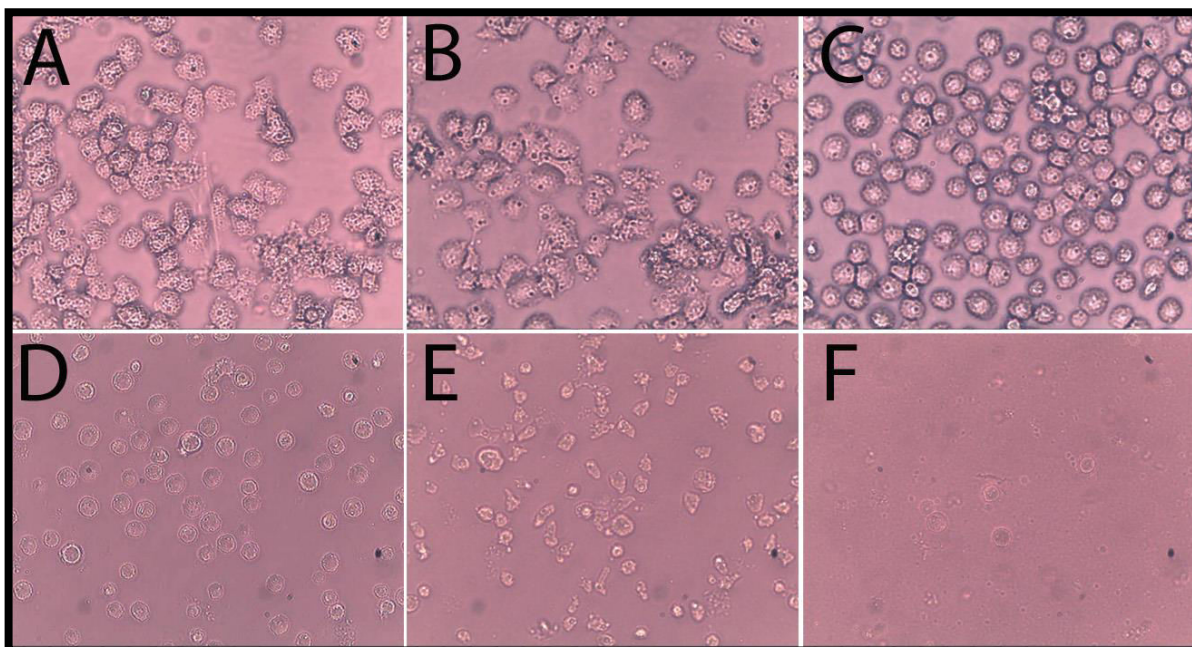


**Figura 10 – Amplificação de DNA do gene da helicase viral de amostras de água do Rio Negro** Pools de amostras de água foram utilizadas na PCR em tempo real empregando os iniciadores construídos baseados no gene da helicase de APMV. As duplicatas dos controles negativo e de amebas (ATCC) não apresentaram nenhuma amplificação específica.

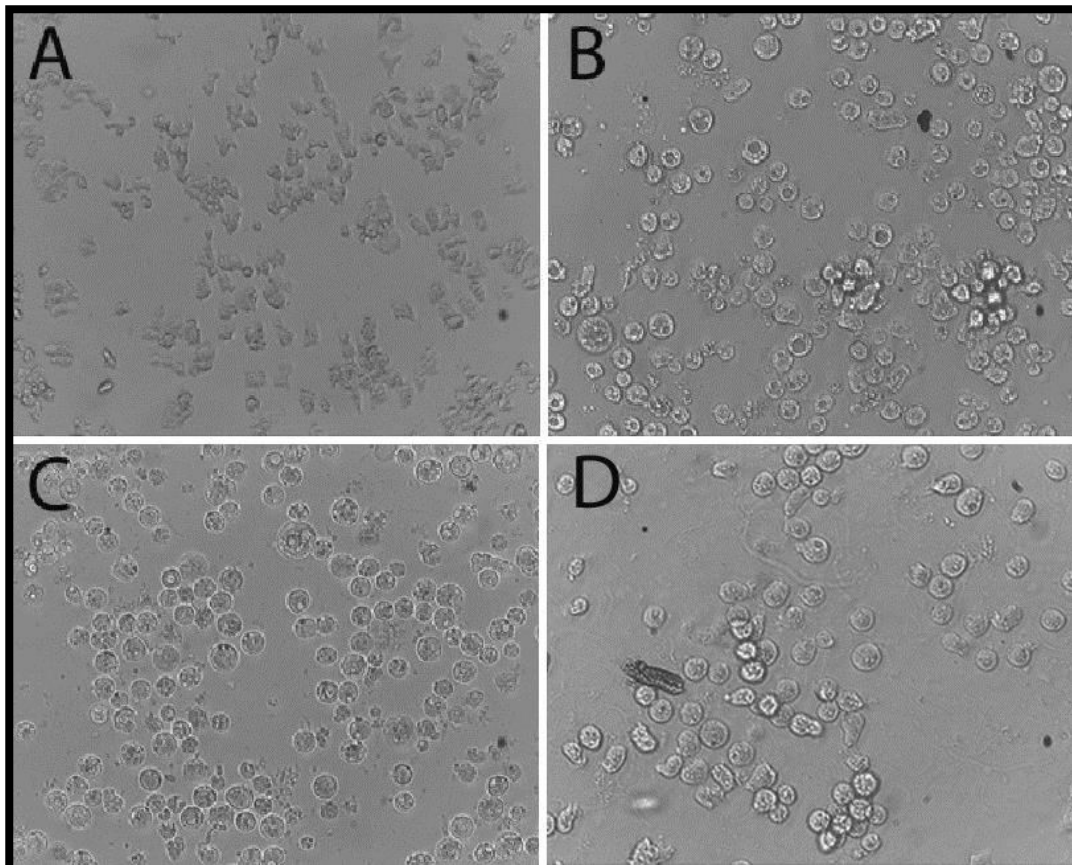
## 6.2 Isolamento de vírus da família *Mimiviridae* em cultivo de *Acanthamoeba castellanii*

O isolamento viral de água do Rio Negro foi feito em cultivos de amebas da espécie *Acanthamoeba castellanii* que foram inoculadas com as amostras enriquecidas e foram feitas duas passagens cegas. A Fig. 11 mostra a evolução do ECP causado pela infecção de amebas por APMV (protótipo). O ECP observado nas amebas infectadas com APMV foi de arredondamento das células após 8 horas de infecção e lise parcial em 24 horas e total em 48 horas (Fig. 11). Uma amostra de água inoculada em *Acanthamoeba castellanii* apresentou ECP típico de vírus da família *Mimiviridae* após 72 horas de inoculação (Fig. 12). Esta amostra foi previamente positiva na PCR para o gene da helicase viral (Fig. 10), indicando o isolamento de uma amostra viral, denominada Samba virus (SMBV), nome sugerido

pelo colaborador francês, Didier Raoult, por ter sido isolado no Brasil. A amostra foi coletada no ponto A2 ponto próximo a Manaus (3°7'34.00"S 60°4'25.00"W).



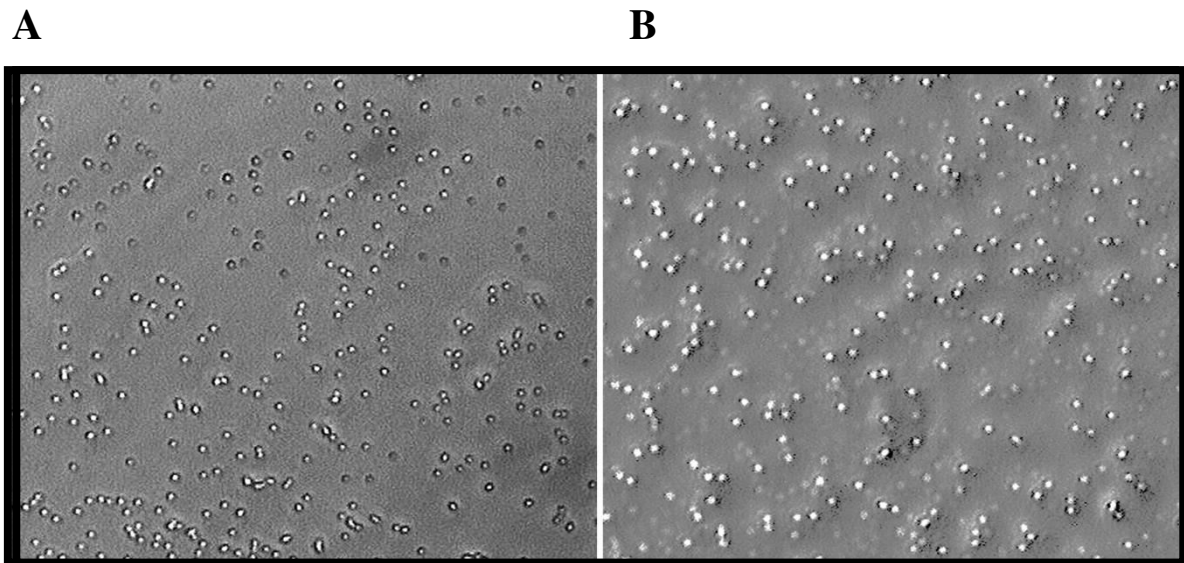
**Figura 11 – Efeito citopático de AMPV em *Acanthamoeba castellanii*** – 40.000 amebas/poço foram infectadas com moi 5 de APMV e o ECP foi observado após 0h (A), 4h (B), 8h (C), 12h (D), 24h (E) e 48 (F) de infecção.



**Figura 12 – Efeito citopático em cultura de *Acanthamoeba castellanii* após inoculação com amostra de água do ponto A2 — 40.000 amebas/poço foram infectadas com moi 5 de APMV e 100 µl da amostra do ponto A2. O ECP foi observado após 8 horas. A- Controle de células; B- Células inoculadas com AMPV; C- Células inoculadas com amostra do ponto A2; D- Células inoculadas com outras amostras de água.**

### **6.3 Microscopia óptica de SMBV e de AMPV**

O vírus isolado SMBV e o APMV foram multiplicados em *Acanthamoeba castellanii* e as partículas virais foram purificadas em colchão de sacarose. Após a purificação viral, partículas do SMBV foram visualizadas em microscopia óptica, indicando se tratar de vírus gigantes. Foi observado que essas partículas possuem dimensões semelhantes aos de partículas de AMPV (Fig. 13).



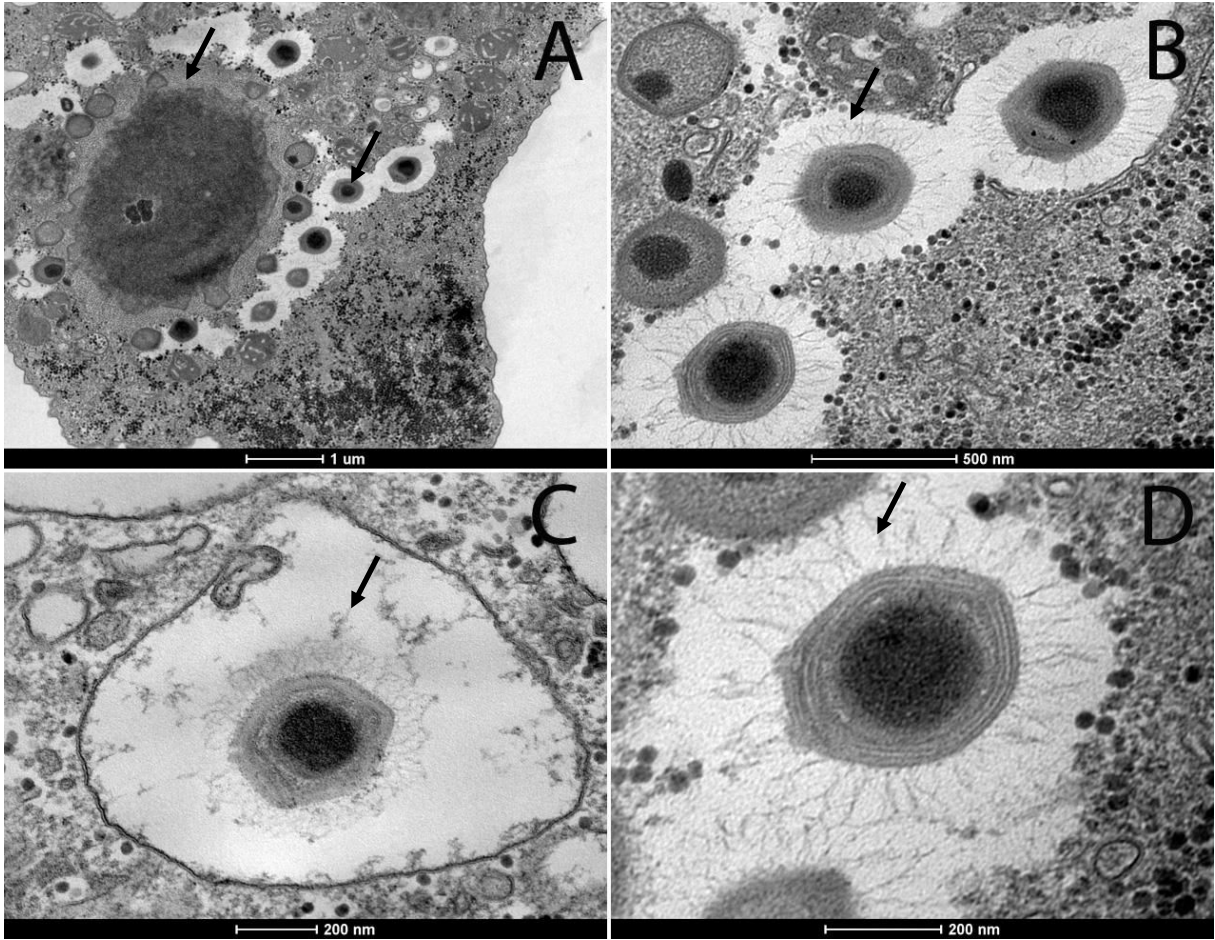
**Figura 13 – Microscopia óptica de partículas purificadas de AMPV e SMBV – *Acanthamoeba castellanii*** foram inoculadas com APMV e SMBV e após 48horas foi feita a purificação do vírus em colchão de sacarose.A- AMPV B- SMBV (1000 x).

#### **6.4 Microscopia eletrônica de transmissão de SMBV e de AMPV**

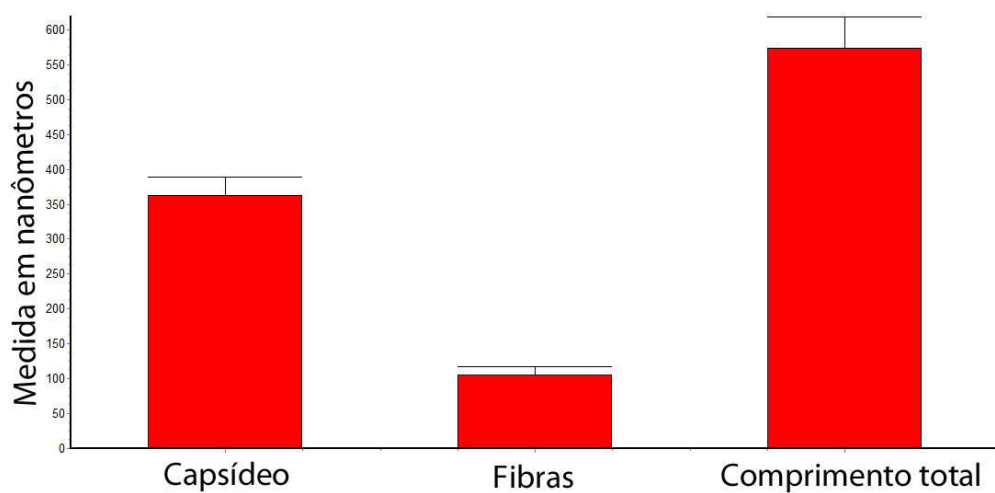
O SMBV purificado foi inoculado em cultivo de *Acanthamoeba castellanii* na m.o.i. de 10 e fixado para observação em microscopia eletrônica de transmissão. Após 7 horas de infecção as imagens revelaram a presença de vírus gigantes (Fig. 14A), com capsídeo apresentando múltiplas camadas e coberta por fibrilas apresentando características semelhantes a outros vírus da família *Mimiviridae* (Fig.14B, D).A fábrica viral apresenta aspecto eletro denso indicando presença de ácidos nucleícos (Fig.14A). Foram observados também na fábrica viral partículas virais em diversos estágios da morfogênese como precoce, intermediário e tardio (Fig. 14 A). Na Fig. 14C pode ser observada uma partícula fagocitada. Algumas imagens revelam uma estrutura do tipo “star gate” também descrita para outros vírus gigantes Fig. 14A.

O tamanho médio das partículas conforme determinado por morfometria foi de 574 nm, com um capsídeo de 352 nm e as fibras com 112 nm (Fig. 15)



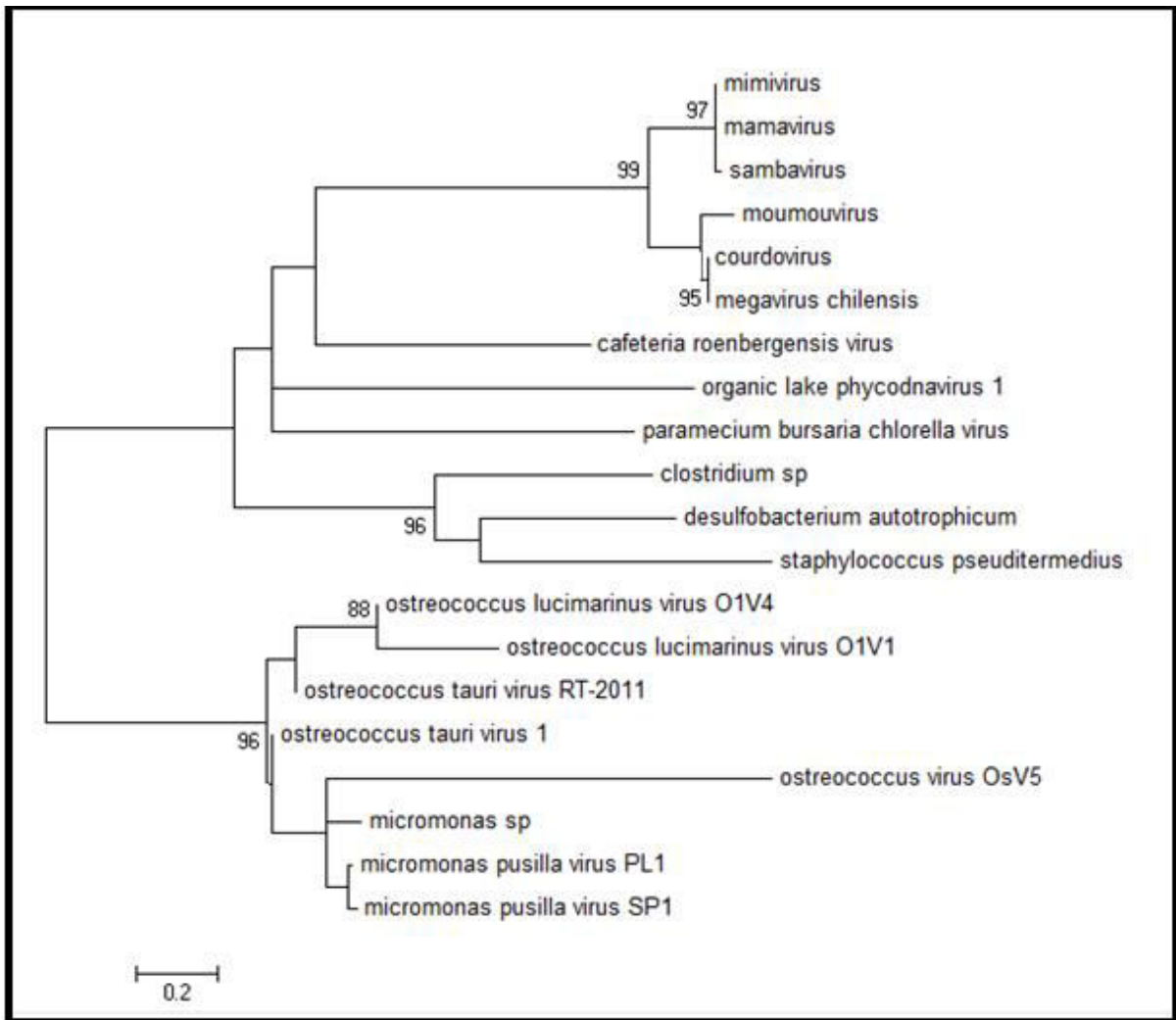


**Figura 14 –Microscopia eletrônica de transmissão do SMBV. A.** Fábrica viral e morfogênese viral **B.** Partículas virais **C.** Partícula viral fagocitada em vesícula **D.** Partícula viral em fase final de morfogênese.



**Figura 15- Morfometria das partículas de SMBV –** O tamanho das partículas foi determinado por medição de partículas maduras no programa Image J.





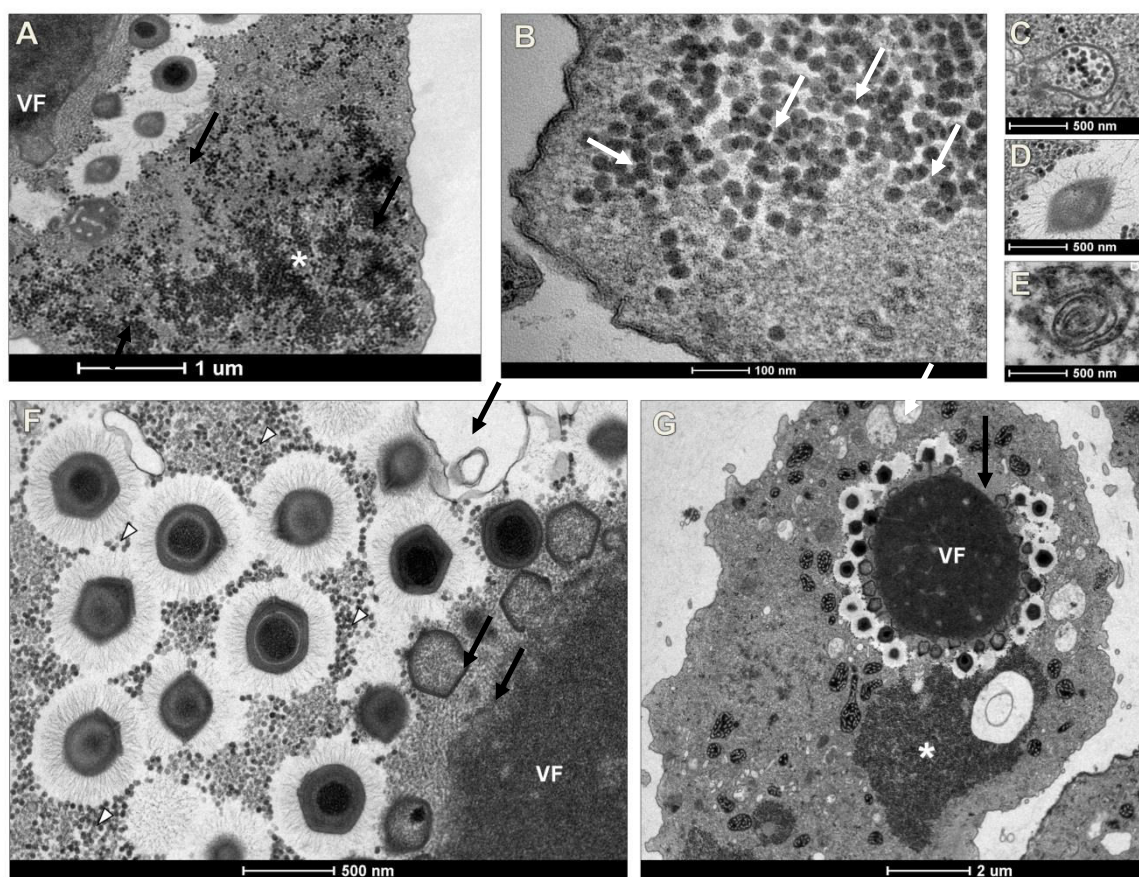
**Figura 17 – Análise filogenética feita utilizando as seqüências de aminoácidos da proteína helicase do SMBV.** A árvore foi construída no programa MEGA 4.0, Neighbor-Joining, com 1000 replicatas. Os valores de bootstrap estão indicados nas ramificações dos táxons. Números de acesso - Mamavirus: AEQ60584.1; AMPV: YP\_003986900.1; Moomouvirus: AEX62785.1; Courdovirus: AEX61642.1; Megavirus chilensis: YP\_004894548.1; Cafeteria roenbergensis virus: YP\_003969949.1; Organic Lake phycodnavirus: ADX05820.1; Paramecium bursaria Chlorella virus: YP\_001498273.1; Clostridium sp.: ZP\_09204186.1; Desulfobacterium autotrophicum: YP\_002601667.1; Staphylococcus pseudintermedius: YP\_004150024.1; Ostreococcus lucimarinus virus O1V4: AET84502.1; Ostreococcus lucimarinus virus O1V1: YP\_004061700.1; Ostreococcus tauri virus RT-2011: AFC34974.1; Ostreococcus tauri virus 1: YP\_003494904.1; Ostreococcus virus OsV5: YP\_001648144.1; Micromonas pusilla virus PL1: AET43740.1; Micromonas pusilla virus SP1: AET85032.1; Micromonas sp. RCC1109 virus MpV1: YP\_004061947.1.

## 6.6 Virófago de SMBV

A microscopia eletrônica do SMBV evidenciou além das estruturas dos mimivírus demonstradas na Fig. 14, estruturas menores de aproximadamente 35 nm de forma hexagonal adjacentes a fábrica viral de SMBV ou próximos as partículas virais durante a fase final de montagem (Fig. 18A, B). Estas estruturas que correspondem a virófagos foram denominadas de Rio Negro virophage (RNV).

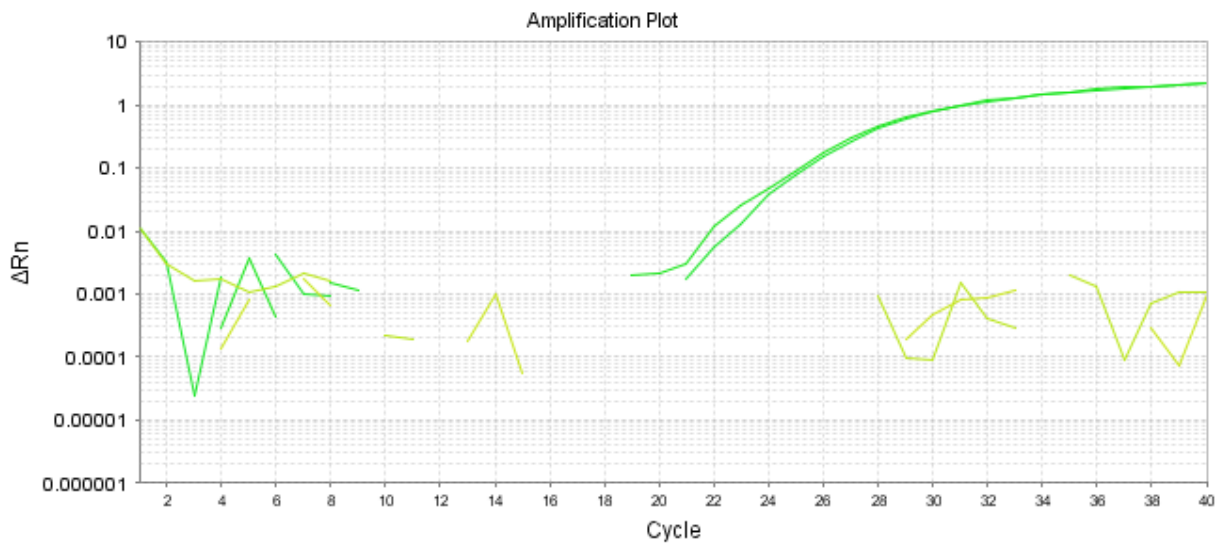
A análise de amebas infectadas revelou a presença de partículas atípicas de SMBV com alterações de morfologia como resultado de infecção pelo virófago como capsídeos com alterações envolvendo partículas de 35 nm (Fig. 18 C), partículas com formato ovalado (Fig. 18 D) e capsídeos espiralados (Fig. 18 E). Para analisar a influência do virófago na multiplicação do vírus gigante, amebas foram infectadas com m.o.i. de 10 com APMV e com 100 µL de filtrado do SMBV. Após 16 horas foram identificadas em microscopia eletrônica partículas de filtrado de SMBV em associação com partículas de APMV durante as fases de montagem e morfogênese.

Como observado em amebas infectadas com SMBV e virófago, partículas com alterações de morfologia também foram visualizadas (Fig. 18 F). Em uma visão geral amebas co-infectadas apresentam grande acúmulos de virófagos (~3,0 x 3,5 µm), maiores em área do que as fábricas virais de APMV (Fig. 18 G).



**Figura 18 – Microscopia eletrônica de transmissão do virófago RNV.** *Acanthamoeba castellanii* foi infectada com o SMBV purificado e o virófago isolado RNV e após 7 horas foi feita a fixação. **A e B** - agrupamentos de virófangos indicados por setas. **C, D e E** - anormalidades na morfogênese. **F e G** – virófago isolado de SMBV associado com APMV. VF- fábrica viral

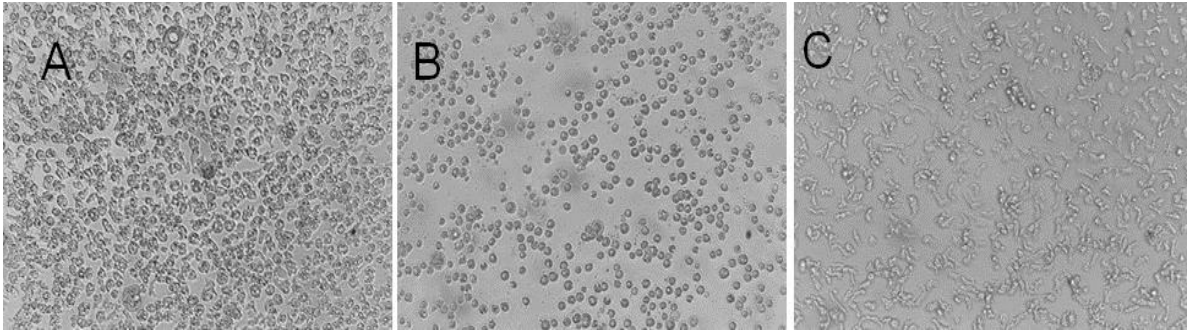
Como já haviam sido descritas estruturas semelhantes em amebas co-infectadas com APMV e o SPNV foi feita a investigação da natureza destas partículas. Foi feito um PCR em tempo real para o virófago empregando iniciadores para o gene de capsídeo, de acordo com dados anteriormente descrito no Genbank (AFH75293). Amebas não infectadas ou infectadas somente com APMV não apresentaram amplificação. O DNA foi amplificado e a identidade confirmada por seqüenciamento (Fig. 19).



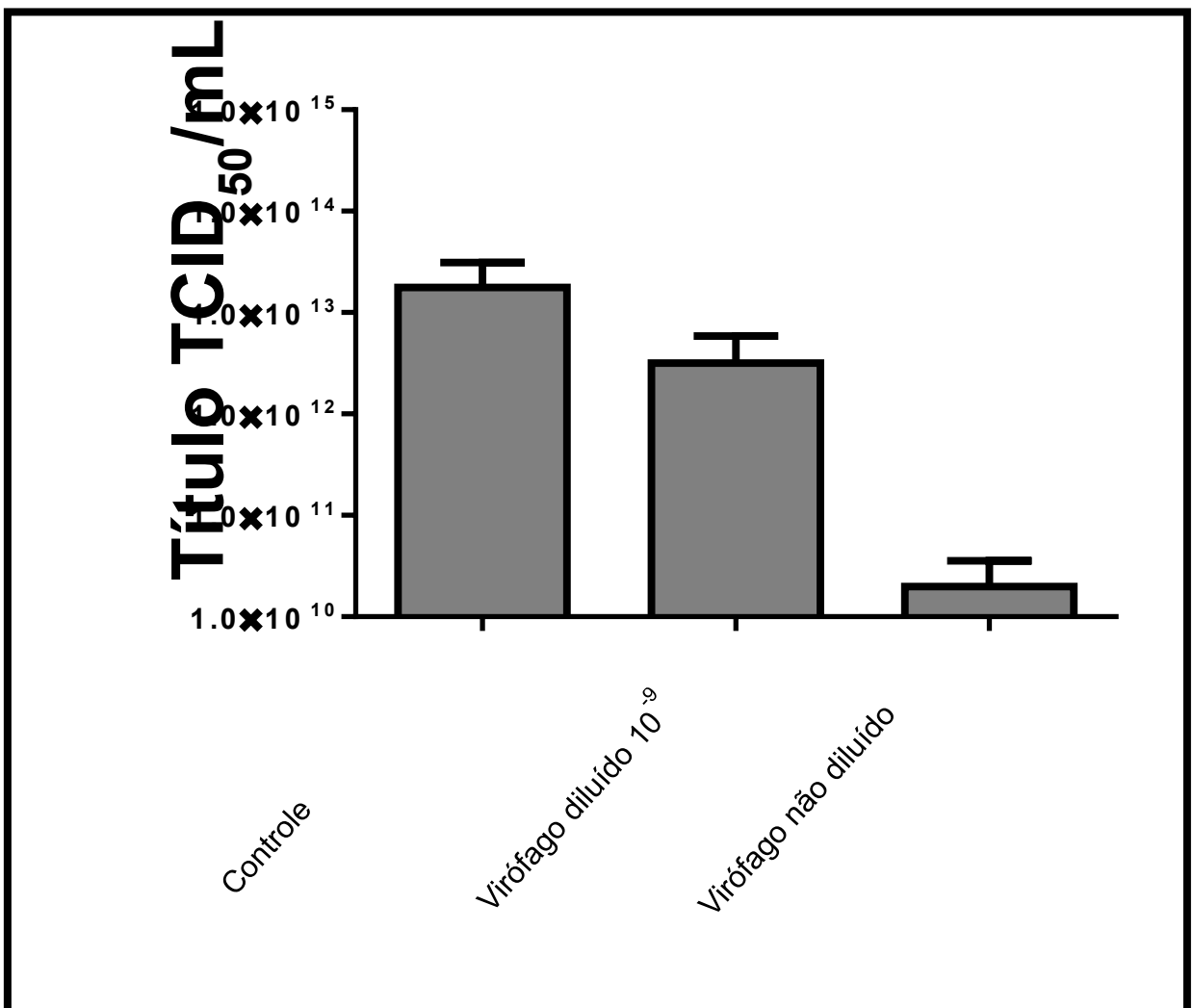
**Figura 19. Amplificação por PCR em tempo real empregando iniciadores para o gene de capsídeo de SPNV de amostras de SMBV purificado e controle de amebas.**

Para quantificar a inibição causada pelo virófago de SMBV na multiplicação do vírus gigante, *A. castellanii* foi infectado com APMV numa moi de 1 e superinfectado com 100  $\mu$ l da solução de virófago, não diluído e diluído  $10^{-9}$ . A infectividade foi medida por TCID<sub>50</sub> após 48 horas por observação do ECP de APMV em *A. castellanii*.

Após três dias, as amebas foram observadas ao microscópio óptico (Fig.20 A, B, C) e pode ser observada uma redução no ECP do vírus quando na presença do virófago. Os vírus foi titulado (Fig. 20D) e na presença do virófago não diluído houve uma redução em torno de 3 logs no título do AMPV.



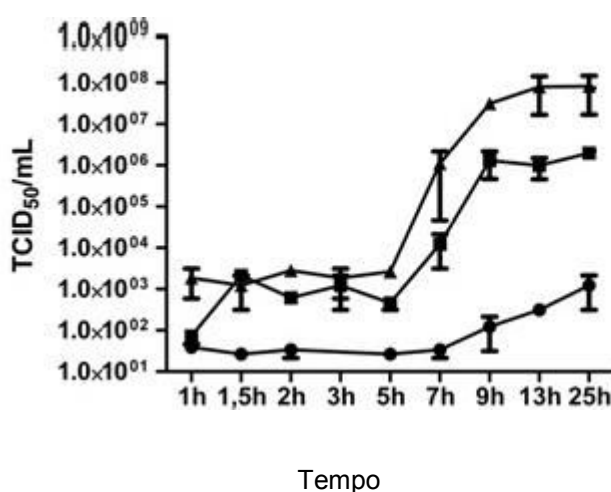
D



**Figura 20 – Redução de infectividade do mimivírus por infecção com RNV – *Acanthamoeba castellanii*** foi infectada com AMPV ou co-infectada com APMV+RNV e observada ao microscópio óptico após 3 dias. **A.** Controle de células **B.** Amebas infectadas com mimivírus com m.o.i de 1. **C.** Amebas co-infectadas com APMV e RNV. **D.** Quantificação da redução do título viral na presença do virófago RNV em diferentes diluições.

## 6.7 Curva de ciclo único de SMBV, APMV e RNV

Foi feita uma curva de ciclo único (0 a 25 horas) de APMV, SMBV e APMV co-infectado com RNV (Fig 21). A presença do RNV determinou uma redução no título de APMV, de dois logs em tempos precoces até cinco logs 25 horas após a infecção. O viróforo interferiu na multiplicação do protótipo APMV. .

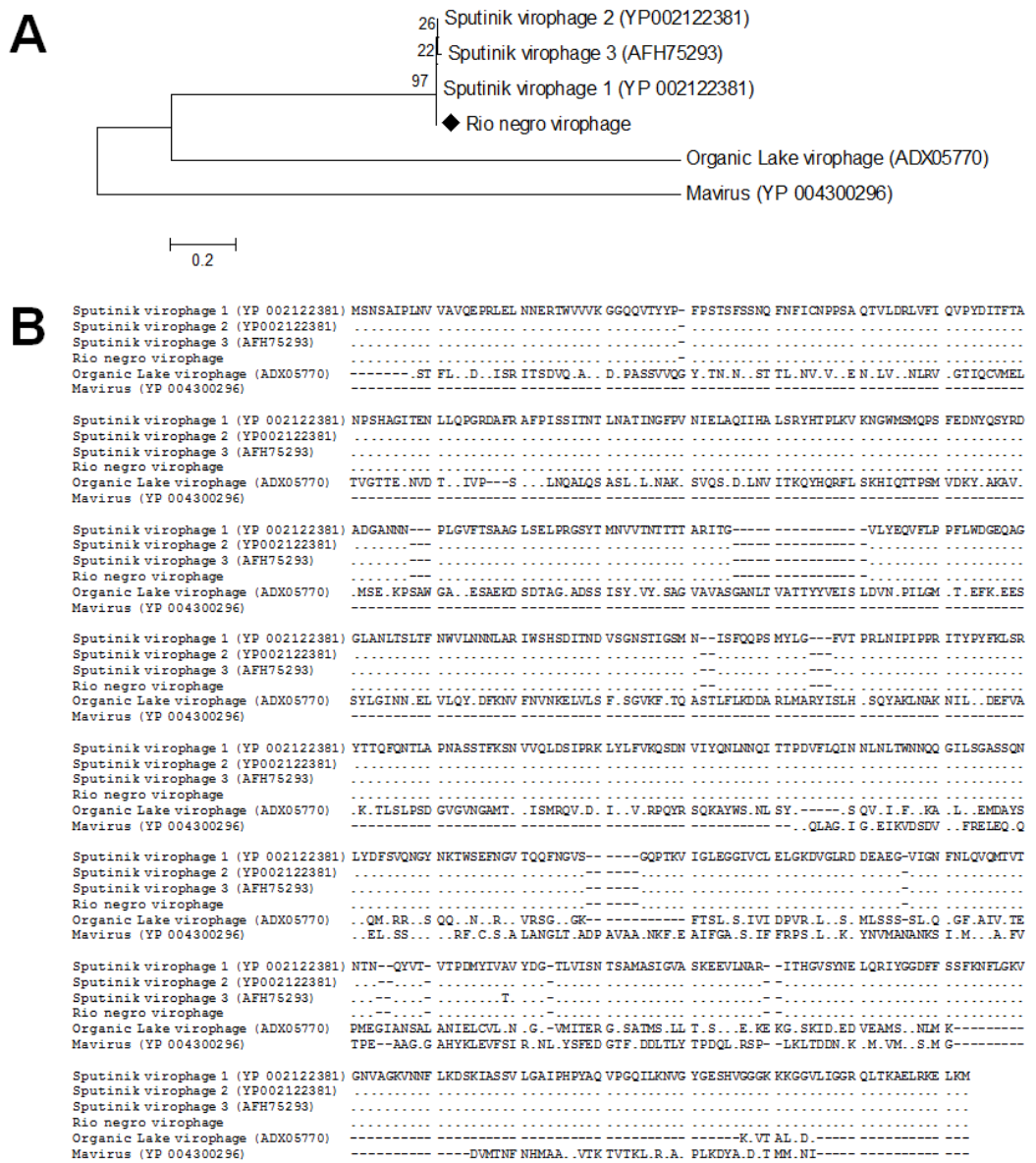


**Figura 21 – Curva de ciclo único de APMV, SMBV e APMV co-infectado com RNV** – Amebas foram infectadas na m.o.i. de 10 com ▲ APMV, ■SMBV ou ●AMPV co-infectado com RNV e o sobrenadante foi coletado em diferentes tempos de 1 a 25 horas. Como controle foram empregados amebas com viróforo.

## 6.8. Análise da sequência de nucleotídeos do RNV

O gene do capsídeo do RNV foi sequenciado e analisado. As sequências foram alinhadas com sequências de viróforos publicadas no Genbank e alinhadas. Análises filogenéticas baseadas no gene do capsídeo foram feitas usando os métodos de “neighbor joining” ou “máxima parcimônia” (bootstrap de 1000) no programa MEGA 4.1. A análise revelou 100% de identidade com SPNV, e alta identidade com outros viróforos. O RNV se agrupou com Sputnik like virophage e separado de outros viróforos, como o Mavirus e Organic Lake virophage. A sequência de nucleotídeos do gene do capsídeo apresentou 100% de identidade com SPNV.





**Figura 22 – Análise filogenética e alinhamento de sequência de nucleotídeos de gene de capsídeo de RNV. A.** A árvore foi construída no programa MEGA 4.0, Neighbor-Joining, Tamura-3-parâmetros, com 1000 replicatas. Os valores de bootstrap estão indicados nas ramificações dos táxons. Os números de acesso do Genbank estão entre parênteses. **B.** Alinhamento das sequencias empregadas na construção da árvore filogenética.

## 7. DISCUSSÃO

Os vírus gigantes têm impressionado os cientistas com seus genomas e peculiaridades estruturais, auxiliando no entendimento acerca da evolução dos grandes vírus de DNA (La Scola B, *et al.*, 2003; Arslan *et al.*, 2011, Philippe *et al.*, 2013 ; Xiao *et al.*, 2009; Claverie & Abergel, 2010; Boyer M, *et al.*, 2011; Suzan-Monti *et al.*, 2007 ; Krupovic & Cvirkaite-Krupovic, 2011; Desnues & Raoult, 2010) .

Nesta dissertação foram descritos o isolamento e caracterização do SMBV, um novo vírus do gênero *Mimivirus*, das águas do Rio Negro da Amazônia brasileira; bem como o isolamento e caracterização de um virófago associado, denominado Rio Negro virophage, o primeiro virófago de mimivírus isolado nas Américas. A presença de vírus da família *Mimiviridae* e de virófagos no Rio Negro corrobora estudos prévios que indicam o envolvimento destes vírus em ecossistemas aquáticos (Ghedini & Claverie, 2005; Monier *et al.*, 2008; Claverie, *et al.*, 2009; Fischer *et al.*, 2010). A análise do gene da helicase revelou que SMBV se agrupa filogeneticamente com os mimivírus do grupo A, incluindo representantes como mimivírus e mamavírus.

SMBV apresentou um tamanho médio de 574 nm (Fig.15) sendo este valor um pouco menor do que a média dos outros mimivírus em torno de 750 nm (Xiao *et al.*, 2005; Xiao *et al.*, 2009; Zauberman *et al.*, 2008 e Kuznetsov *et al.*, 2010) em estudos de microscopia eletrônica e microscopia de força atômica. As fibrilas apresentaram tamanho médio de 112 nm (Fig. 15) também um pouco menores do que os descritos para APMV, em média de 120 nm (Xiao *et al.*, 2005; 2009; Zauberman *et al.*, 2008). Recentemente, vírus ainda maiores foram isolados, os Pandora virus, com genomas de até 2,5 Mb (Phillipe *et al.*, 2013), todavia, estes vírus não se agrupam filogeneticamente dentro do táxon dos mimivírus (Yutin & Koonin, 2013).

Vírus da família *Mimiviridae* apresentam vários tipos de fibrilas. Alguns apresentam fibrilas densas e curtas, enquanto outros, como APMV, apresentam

fibrilas longas, retas e mais esparsas. Ao contrário, o SMBV apresenta fibrilas irregulares, aparentemente crespas (Fig. 14B e D). As diferenças na morfologia das fibrilas podem estar relacionadas com as condições do ambiente no qual o vírus se multiplicam. Pode também ser levantada a possibilidade de que o APMV tenha sofrido muitas passagens *in vitro* antes de ser visualizado, o que não ocorreu com o SMBV. Alterações fenotípicas em APMV com a ausência de fibrilas na superfície foram relatadas após 150 passagens em amebas livres de germes (Boyer et al., 2011).

O isolamento do SMBV foi feito empregando-se um método de pré-enriquecimento, mais especificamente com o meio água-arroz, durante 20 dias em local escuro, a TA, acrescidas de *Acanthamoeba castellanii* livre de patógenos. Este processo também foi empregado por Arslan et al., 2011 no isolamento de *Megavirus chilensis*. Pagnier et al. 2013 descreve diversas técnicas de aprimoramento para o isolamento de vírus gigantes, como o uso de antibióticos, seleção preliminar por métodos moleculares e emprego de métodos de isolamento em larga escala que permitiram o isolamento de 18 amostras de vírus da família *Marseilleviridae* e 45 amostras de vírus da família *Mimiviridae* de diversos ambientes, inclusive amostras de humanos.

Como na reação de PCR 57 % dos pools de amostras de água foram positivas para amplificação do DNA do gene da helicase (Fig. 10), o processo de seleção que ocorreu nos estágios de pré-enriquecimento e a ameba utilizada no isolamento podem ter influenciado no resultado. A amostra isolada no ponto 2, foi coletada em área mais próxima a Manaus, sendo portanto maior a influência antropogênica. Esta seleção pode ser explicada pelo emprego da *Acanthamoeba castellanii* como hospedeira. Como os iniciadores empregados para a região do gene da helicase (La Scola et al., 2008) que codifica para o domínio C-terminal da superfamília das helicases, este alvo pode ser mais amplo do que o empregado no isolamento. Ngounga et al., 2013 descreveram o uso de diversos iniciadores para amplificar as três linhagens de mimivírus descritas, o que pode ampliar ainda mais a possibilidade de detecção de novos vírus.

O virófago identificado neste trabalho em associação com o SMBV, denominado RNV apresentou um tamanho médio de 35 nm tamanho um pouco menor do que o descrito de 50 a 100 nm para os virófagos previamente isolados ( Fischer et al., 2011; La Scola et al., 2008; Yau et al, 2011; Sun et al., 2010). O RNV foi inicialmente identificado por PCR em tempo real empregando iniciadores para o gene de capsídeo, confirmando sua identidade (100% de identidade com virófagos-like).

Ensaio de microscopia eletrônica (Fig. 18) evidenciaram a morfogênese dos virófagos nas proximidades da fábrica viral de SMBV, conforme descrito para outros virófagos. RNV também foi capaz de modular a multiplicação de APMV reduzindo o título viral em até 5 logs, beneficiando o hospedeiro (amebas) diante da infecção com o vírus. Esta característica de redução do título viral na co-infecção o diferencia de vírus satélites (La Scola et al., 2008).

A descoberta e caracterização do SMBV e RNV nos leva a questionar sobre o papel destes agentes virais na ecologia microbiana. A floresta tropical da Amazônia tem uma imensa diversidade de flora e fauna e poucos dados estão disponíveis sobre a virosfera. A descoberta de SMBV é mais uma indicação de que estes vírus são ubíquos, e estão disponíveis para serem isolados e nos ensinar sobre a sua complexidade.

## **8. CONCLUSÕES**

- O presente trabalho descreve o isolamento do maior vírus já isolado no Brasil, o SMBV;
- SMBV se agrupa filogeneticamente com mimivírus do grupo A;
- SMBV apresenta características morfológicas únicas, sobretudo no que diz respeito às suas dimensões e disposição de suas fibras superficiais;
- RNV apresenta aspectos genéticos e biológicos que o caracterizam como um virófago, o primeiro isolado nas Américas.

## **9.PERSPECTIVAS**

- Mais estudos de prospecção são necessários para desvendar a amplitude da virosfera da Amazônia
- Emprego de outros hospedeiros no isolamento
- Estudos do genoma completo do Samba virus e do virófago Rio Negro

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERGEL, C.; RUDINGER-THIRION, G.R.; CLAVERIE, J.M. Virus-encoded aminoacyl-tRNA synthetases: structural and functional characterization of Mimivirus tyrRS and metRS. **J. Virol.**, v. 81, p.12406–12417, 2007.

ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS EW. Lipman DJ. Basic local alignment search tool. **J Mol Biol.**, v. 215, p. 403-410, 1990.

ARSLAN, D.; LEGENDRE, M.; SELTZER, V.; ABERGEL, C.; CLAVERIE, J.M. Distant Mimivirus relative with a larger genome highlights the fundamental features of Megaviridae. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 108, p. 17486-17491, 2011.

BERGER, P.; PAPAIZIAN, L.; DRANCOURT, M.; LA SCOLA, B.; AUFRAY, J.P.; RAOULT, D. Ameba-associated microorganisms and diagnosis of nosocomial pneumonia. **Emerg Infect Dis.**, v. 12, p. 248-55, 2006.

BORATTO, P.V.; DORNAS, F.P.; ANDRADE, K.R.; RODRIGUES, R.; PEIXOTO, F.; SILVA, L.C.; LA SCOLA, B.; COSTA, A.O.; DE ALMEIDA, G.M.; KROON, E.G.; ABRAHÃO, J.S. Amoebas as mimivirus bunkers: increased resistance to UV light, heat and chemical biocides when viruses are carried by amoeba hosts. **Arch. Virol.**, v.158, 2013

BOUGHALMI, M.;PAGNIER, I.;AHERFI, S.;COLSON, P.;RAOULT, D.;LA SCOLA, B.First Isolation of a Giant Virus from Wild *Hirudo medicinalis* Leech: Mimiviridae isolation in *Hirudo medicinalis*. **Viruses**, v. 27 p. 2920-2930, 2013a

BOUGHALMI, M.;SAADI, H.; PAGNIER, I.; COLSON, P.; FOURNOUS, G.; RAOULT, D.; LA SCOLA, B.High-throughput isolation of giant viruses of the Mimiviridae and Marseilleviridae families in the Tunisian environment. **Environ Microbiol.** , v. 15 p. 2000-2007, 2013b

BOUSBIA, S.; PAPAIZIAN, L.; SAUX, P.; FOREL, J.M.; AUFRAY, J.P.; MARTIN, C.; RAOULT, D.; LA SCOLA, B. Serologic prevalence of amoeba-

associated microorganisms in intensive care unit pneumonia patients. **PLoS One.**, 8(3):e58111, 2013 .

BOWERS, B. & KORN, E.D. The fine structure of *Acanthamoeba castellanii* (Neff strain). II. Encystment. **J Cell Biol.**, 41, p. 786-805, 1969.

BOYER, M.; MADOU, M.A.; GIMENEZ, G.; LA SCOLA, B.; RAOULT, D. Phylogenetic and phyletic studies of informational genes in genomes highlight existence of a 4 domain of life including giant viruses. **PLoS One**, v. 5, p. e15530, 2010.

BOYER, M.; AZZA, S.; BARRASSI, L.; KLOSE, T.; CAMPOCASSO, A.; PAGNIER, I.; FOURNOUS, G.; BORG, A.; ROBERT, C.; ZHANG, X.; DESNUES, C.; HENRISSAT, B.; ROSSMANN, M.G.; LA SCOLA, B.; RAOULT, D. Mimivirus shows dramatic genome reduction after intraamoebal culture. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108 p. 10296-10301, 2011

BRINDLEY, N.; MATIN, A.; KHAN, N.A. *Acanthamoeba castellanii*: high antibody prevalence in racially and ethnically diverse populations. **Exp Parasitol.**, v. 121, p. 254-256, 2009.

CAMPOS, R.K.; ANDRADE, K.R.; FERREIRA, P.C.; BONJARDIM, C.A.; LA SCOLA, B.; KROON, E.G.; ABRAHÃO, J.S. Virucidal activity of chemical biocides against mimivirus, a putative pneumonia agent. **J Clin Virol.** v. 55, p. 323-328, 2012

CASTELLANI, A. An amoeba growing in cultures of a yeast. Fourth note. **J. Trop. Med. Hyg.**, v. 33, p. 237, 1930.

CLAVERIE, J.M. Giant viruses In the oceans: the 4th Algal Virus Workshop. **Virol. J.**, v. 2, p. 52, 2005.

CLAVERIE, J.M. & ABERGEL, C. Mimivirus: the emerging paradox of quasi-autonomous viruses. **Trends Genet** v. 26 p. 431-437, 2010.



CLAVERIE, J.M.; GRZELA, R.; LARTIGUE, A.; BERNADAC, A.; NITSCHKE, S.; VACELET, J.; OGATA, H.; ABERGEL, C. Mimivirus and Mimiviridae: Giant viruses with an increasing number of potential hosts, including corals and sponges. **J Invertebr Pathol.**, v.101, p. 172–180, 2009.

CLAVERIE, J.; OGATA, H.; AUDIC, S.; ABERGEL, C.; SUHRE, K.; FOURNIER, P. Mimivirus and the emerging concept of 'giant' virus. **Virus Res.**, v. 117, p.133–144, 2006.

COLSON, P.; YUTIN, N.; SHABALINA, S.A.; ROBERT, C.; FOURNOUS, G., LA SCOLA, B.; RAOULT, D.; KOONIN, E.V. Viruses with More Than 1,000 Genes: Mamavirus, a new *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus strain, and reannotation of Mimivirus genes., **Genome Biol Evol.** v.3 p.737-742, 2011.

COLSON, P.; DE LAMBALLERIE, X.; FOURNOUS, G.; RAOULT D. Reclassification of giant viruses composing a fourth domain of life in the new order megavirales. **Intervirology**, v. 55, p. 321-332, 2012.

COLSON, P.; FOURNOUS, G.; DIENE, S.M.; RAOULT, D. Codon Usage, Amino Acid Usage, Transfer RNA and Amino-Acyl-tRNA Synthetases in Mimiviruses **Intervirology**, v. 56 p. 364–375, 2013a

COLSON, P.; LA SCOLA, B.; RAOULT, D. Giant Viruses of Amoebae as Potential Human Pathogens., **Intervirology** v. 56 p.376–385, 2013b

COLSON, P. & RAOULT, D. Lamarckian evolution of the giant Mimivirus in allopatric laboratory culture on amoebae., **Front Cell Infect Microbiol.** v. 2 p. 91, 2012

COSTA, A.O.; CASTRO, E.A.; FERREIRA, G.A.; FURST, C.; CROZETA, M.A.; THOMAZ-SOCCOL, V. Characterization of *acanthamoeba* isolates from dust of a public hospital in Curitiba, Paraná, Brazil. **J Eukaryot Microbiol.**, v. 57, p.70-5, 2010.

COSTA, C.; BERGALLO, M.; ASTEGIANO, S.; TERLIZZI, M.E.; SIDOTI, F.; SOLIDORO, P.; CAVALLO, R. Detection of mimivirus in bronchoalveolar lavage of ventilated and nonventilated patients. **Intervirology**, v. 55, p.303-305, 2012

CULLEY, A.I. Virophages to viromes: a report from the frontier of viral oceanography. **Curr Opin Virol.**, v. 1, p. 52-57, 2011.

DARE, R.K.; CHITTAGANPITCH, M.; ERDMAN, D.D. Screening pneumonia patients for mimivirus. **Emerg Infect Dis.**, v. 14, p. 465-7, 2008.

DESNUES, C.; LA SCOLA, B.; YUTIN, N.; FOURNOUS, G.; ROBERT, C.; AZZA, S.; JARDOT, P.; MONTEIL, S.; CAMPOCASSO, A.; KOONIN, E.V.; RAOULT, D. Provirophages and transpovirons as the diverse mobilome of giant viruses. **Proc Natl Acad Sci U S A.**, v. 109 p. 18078-18083, 2012.

DESNUES, C. & RAOULT, D. Inside the lifestyle of the virophage. **Intervirology**, v. 53 p. 293-303, 2010

**EMBRAPA**, Recursos Genéticos e Biotecnologia. Electropherogram quality analysis. Brasil, 2010. Disponível em <<http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/>>. Acesso em 10 mai. 2012.

FISCHER, M.G. Sputnik and Mavirus: more than just satellite viruses. **Nat Rev Microbiol.**, v. 10, p. 78, 2012.

FISCHER, M.G.; ALLEN, M.J.; WILSON, W.H.; SUTTLE, C.A. Giant virus with a remarkable complement of genes infects marine zooplankton. **Proc Natl Acad Sci U S A** v. 107 p. 19508-19513, 2010

FISCHER, M.G. & SUTTLE, C.A. A Virophage at the Origin of Large DNA Transposons **Science**, v. 332, p. 231-234, 2011.

GAIA, M.; PAGNIER, I.; CAMPOCASSO, A.; FOURNOUS, G.; RAOULT, D.; LA SCOLA, B. Broad spectrum of mimiviridae virophage allows its isolation using a mimivirus reporter. **Plos One**, v. 8, e61912, 2013

GHEDIN, E.& CLAVERIE, J.M. Mimivirus relatives in the Sargasso Sea. **Virologia**, v., p. 62, 2005

GHIGO, E.; KARTENBECK, J.; LIEN, P.; PELKMANS, L.; CAPO, C.; MEGE, J.; RAOULT, D. Ameobal pathogen Mimivirus infects macrophages through phagocytosis. **PLoS Pathogens**, v. 4, e1000087, 2008.

HOFFMANN, B.; SCHEUCH, M.; HÖPER, D.; JUNGBLUT, R.; HOLSTEG, M.; SCHIRRMAYER, H. ESCHBAUMER, M.; GOLLER, K.V.; WERNIKE, K.; FISCHER, M.; BREITHAUPT, A.; METTENLEITER, T.C.; BEER, M. Novel orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. **Emerg Infect Dis**. v.18 p.469–472, 2012

ICTV. Virus taxonomy. 2011. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>>. Acesso em 10 mai. 2012.

JEUDY, S.; ABERGEL, C.; CLAVERIE, J.M.; LEGENDRE, M. Translation in giant viruses: a unique mixture of bacterial and eukaryotic termination schemes. **PLoS Genet**. v. 8, e1003122, 2012.

KHAN, M.; LA SCOLA, B.; LEPIDI, H.; RAOULT, D. Pneumonia in mice inoculated experimentally with *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus. **Microb Pathog**., v. 42, p. 56-61, 2007.

KLOSE, T.; KUZNETSOV, Y.G.; XIAO, C.; SUN, S.; MCPHERSON, A.; ROSSMANN, M.G. The three-dimensional structure of Mimivirus. **Intervirology**, v. 53, p. 268-73, 2010.

KRUPOVIC, M.& CVIRKAITE-KRUPOVIC, V. Virophages or satellite viruses? **Nat Rev Microbiol.**, v. 9 p. 762-763, 2011

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. **Comput Appl Biosci.**, v. 10, p. 189-191, 1994.

KUZNETSOV, Y.G.; XIAO, C.; SUN, S.; RAOULT, D.; ROSSMANN, M.; MCPHERSON, A. Atomic force microscopy investigation of the giant mimivirus. **Virology**, v. 15, p. 127-137, 2010.

LARCHER, C.; JELLER, V.; FISCHER, H.; HUEMER, H.P. Prevalence of respiratory viruses, including newly identified viruses, in hospitalised children in Austria. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.**, v. 25, p. 681-686, 2006.

LA SCOLA B.; AUDIC S.; ROBERT C.; JUNGANG L.; DE LAMBALLERIE X.; DRANCOURT M.; BIRTLES R.; CLAVERIE, J.M.; RAOULT D. A giant virus in amoebae. **Science**, v. 299, p. 2033, 2003.

LA SCOLA B.; DESNUES, C.; PAGNIER, I.; ROBERT, C.; BARRASSI, L.; FOURNOUS, G.; MERCHAT, M.; SUZAN-MONTI, M.; FORTERRE, P.; KOONIN, E.; RAOULT D. The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus. **Nature**, v. 455, p. 100-104, 2008.

LA SCOLA, B.; MARRIE, T.J.; AUFRAY, J.P.; RAOULT, D. Mimivirus in pneumonia patients. **Emerg Infect Dis.** v. 11, p. 449-52, 2005

LA SCOLA, B.; CAMPOCASSO, A.; N'DONG, R.; FOURNOUS, G.; BARRASSI, L.; FLAUDROPS, C.; RAOULT, D. Tentative characterization of new environmental giant viruses by MALDI-TOF mass spectrometry. **Intervirology**, v. 53 p. 344-353, 2010.

LE BLANC, I.; LUYET, P.P.; PONS, V.; FERGUSON, C.; EMANS, N.; PETIOT, A.; MAYRAN, N.; DEMAUREX, N.; FAURÉ, J.; SADOUL, R.; PARTON, R.G.; GRUENBERG, J. Endosome-to cytosol transport of viral nucleocapsids. **Nat Cell Biol.**, v. 7, p. 653-664, 2005.

LEGENDRE, M.; ARSLAN, D.; ABERGEL, C.; CLAVERIE JM. Genomics of Megavirus and the elusive fourth domain of Life. **Commun Integr Biol.**, v. 5, p. 102-106, 2012.

LEGENDRE, M.; SANTINI, S.; RICO, A.; ABERGEL, A. ; CLAVERIE, J. Breaking the 1000-gene barrier for Mimivirus using ultra-deep genome and transcriptome sequencing **Virology**, v. 8, p.99 -104, 2011.

LUTHER, KB.; HÜLSMEIER, A.J.; SCHEGG, B.; DEUBER, S.A.; RAOULT, D.; HENNET, T. Mimivirus collagen is modified by bifunctional lysyl hydroxylase and glycosyltransferase enzyme. **J Biol Chem.**,v. 286, p. 43701-43709, 2011.

MONIER, A.; LARSEN, J.B.; SANDAA, R.A.; BRATBAK, G.; CLAVERIE, J.M.; OGATA, H. Marine mimivirus relatives are probably large algal viruses. **Virology**, v. 5, p. 12, 2008.

MOREIRA D. & BROCHIER-ARMANET, C. Giant viruses, giant chimeras: the multiple evolutionary histories of Mimivirus genes. **BMC Evol Biol.**, v.18, p. 8-12, 2008

MUTSAFIA, Y.; ZAUBERMAN, N.; SABANAYB, N.I.; MINSKYA, A. Vaccinia-like cytoplasmic replication of the giant Mimivirus. **Proc Natl Acad Sci.**,v. 107, p. 5978–5982, 2010.

NGOUNGA, T.; PAGNIER, I.; RETENO, D.G.; RAOULT, D.; LA SCOLA, B.; COLSON, P. Real-time PCR systems targeting giant viruses of amoebae and their virophages. **Intervirology**, v. 56 p. 413-423, 2013

PAGNIER, I.; RETENO, D.G.; SAADI, H.; BOUGHALMI, M.; GAIA, M.; SLIMANI, M.; NGOUNGA, T.; BEKLIZ, M.; COLSON, P.; RAOULT, D.; LA SCOLA, B. A decade of improvements in *Mimiviridae* and *Marseilleviridae* isolation from amoeba. **Intervirology**, 2013 v. 56 p. 354-363, 2013

PAROLA, P.; RENVOISÉ, A.; BOTELHO-NEVERS, E.; LA SCOLA, B.; DESNUES, C.; RAOULT, D. Acanthamoeba polyphaga mimivirus virophage seroconversion in travelers returning from Laos. **Emerg Infect Dis.**, 2012 v. 18 p. 1500-1502, 2012

PEARSON, H. 'Virophage' suggests viruses are alive- Evidence of illness enhances case for life. **Nature**, v. 454, p. 677, 2008.

PHILIPPE, N.; LEGENDRE, M.; DOUTRE, G.; COUTÉ, Y.; POIROT, O.; LESCOT, M.; ARSLAN, D.; SELTZER, V.; BERTAUX, L.; BRULEY, C.; GARIN, J.; CLAVERIE, J.M.; ABERGEL, C. Pandoraviruses: amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes. **Science**, v. 341 p. 281-286, 2013

PIACENTE, F.; MARIN, M.; MOLINARO, A.; DE CASTRO, C.; SELTZER, V.; SALIS, A.; DAMONTE, G.; BERNARDI, C.; CLAVERIE, J.M.; ABERGEL, C.; TONETTI, M. Giant DNA virus mimivirus encodes pathway for biosynthesis of unusual sugar 4-amino-4,6-dideoxy-D-glucose (Viosamine). **J Biol Chem.**, v. 287, p.3009-3018, 2012.

RAOULT, D.; AUDIC, S.; ROBERT, C.; ABERGEL, C.; RENESTO, P.; OGATA, H.; LA SCOLA, B.; SUZAN, M.; CLAVERIE, J.M. The 1.2-megabase genome sequence of Mimivirus. **Science**, v. 306, p.1344 -1350, 2004.

xRAOULT, D.; LA SCOLA, B.; BIRTLES, R. The discovery and characterization of Mimivirus, the largest known virus and putative pneumonia agent. **Clin Infect Dis.**, v. 45, p. 95–102, 2007.

RAOULT, D. & BOYER, M. Amoebae as genitors and reservoirs of giant viruses. **Intervirology.**, v. 53, p. 321-329, 2010.

RAOULT, D. & GREUB, G. Crescent Bodies of Parachlamydia acanthamoeba and Its Life Cycle within Acanthamoeba polyphaga: an Electron Micrograph Study. **Appl Environ Microbiol.**, v. 68, p. 3076–3084, 2002.

RAOULT, D.; RENESTO, P.; BROUQUI, P. Laboratory infection of a technician by mimivirus. **Ann Intern Med.**, v. 144, p.702-703, 2006.

REED, L. & MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. **Am J Trop Med Hyg.**, v. 18, p.493-494, 1938.

SAADI, H.;PAGNIER, I.;COLSON, P.;CHERIF, J.K.;BEJI, M.;BOUGHALMI, M.;AZZA, S.;ARMSTRONG, N.;ROBERT, C.;FOURNOUS, G.;LA SCOLA, B.;RAOULT D.First isolation of Mimivirus in a patient with pneumonia.**Clin Infect Dis.**, v. 57 e127-134, 2013

SAADI, H.;RETEÑO, D.G.;COLSON, P.;AHERFI, S.;MINODIER, P.;PAGNIER, I.;RAOULT, D.;LA SCOLA, B. Shan virus: a new mimivirus isolated from the stool of a tunisian patient with pneumonia.**Intervirology.**, v. 56 p. 424-429, 2013

SANGER, F.; NICKLEN S.; COULSON, A. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.**Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.74, p. 5463-5467, 1977.

SANTINI, S.;JEUDY, S.;BARTOLI, J.;POIROT, O.;LESCOT, M.;ABERGEL, C.;BARBE, V.;WOMMACK, K.E.;NOORDELOOS, A.A.;BRUSSAARD, C.P.;CLAVERIE, J.M.Genome of Phaeocystis globosa virus PgV-16T highlights the common ancestry of the largest known DNA viruses infecting eukaryotes.**Proc Natl Acad Sci U S A.**, v. 110 p. 10800-10805, 2013

SHAH, N.;HÜLSMEIER, A.J.;HOCHHOLD, N.;NEIDHART, M.;GAY, S.;HENNET, T.Exposure to Mimivirus Collagen Promotes Arthritis.**J Virol.**2013 Oct 30. [Epub ahead of print]

SILVA, L.C.; ALMEIDA, G.M.; OLIVEIRA, D.B.; DORNAS, F.P.; CAMPOS, R.K.; LA SCOLA, B.; FERREIRA, P.C.; KROON, E.G.; ABRAHÃO, J.S. A resourceful giant: APMV is able to interfere with the human type I Interferon system.**Microbes Infect.**2013 Nov 29. [Epub ahead of print]

SLIMANI M, PAGNIER I, BOUGHALMI M, RAOULT D, LA SCOLA B. Alcohol Disinfection Procedure for Isolating Giant Viruses from Contaminated Samples.**Intervirology**. v. 56 p. 434-40, 2013.

SUÁREZ, C.;WELSCH, S.;CHLANDA, P.;HAGEN, W.;HOPPE, S.;KOLOVOU, A.;PAGNIER, I.;RAOULT, D.;KRIJNSE LOCKER, J.Open membranes are the precursors for assembly of large DNA viruses.**Cell Microbiol.**, v. 15 p. 1883-1895, 2013.

SUN, S.; LA SCOLA, B.; BOWMAN,V.D.; RYAN, C.M.; WHITELEGGE, J.P.; RAOULT, D.;ROSSMANN, M.G. 2010. Structural studies of the Sputnik virophage.**J. Virol.**, v. 84 p.894–897, 2010

SUTTLE, C.A. Viruses in the sea *Nature*, v437, p. 356-361, 2005.

SUZAN-MONTI, M.; LA SCOLA, B.; BARRASSI, L.; ESPINOSA, L.; RAOULT, D. Ultrastructural characterization of the giant volcano-like virus factory of *Acanthamoeba polyphaga* Mimivirus. **PLoS One**, v. 2 e328, 2007

VANSPAUWEN, M.J.;FRANSSSEN, F.M.;RAOULT, D.;WOUTERS, E.F.;BRUGGEMAN, C.A.;LINSSEN, C.F.Infections with mimivirus in patients with chronic obstructive pulmonary disease.**Respir Med.**, v. 106 p. 1690-1694, 2012

VANSPAUWEN, M.J.;SCHNABEL, R.M.;BRUGGEMAN, C.A.;DRENT, M.;VAN MOOK, W.N.;BERGMANS, D.C.;LINSSEN, C.F.Mimivirus is not a frequent cause of ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. **J Med Virol.**, v. 85 p. 1836-1841, 2013

VINCENT, A.; LA SCOLA, B.; FOREL, J.M.; PAULY, V.; RAOULT, D.; PAPAZIAN, L.Clinical significance of a positive serology for mimivirus in patients presenting a



suspicion of ventilator-associated pneumonia. **Crit Care Med.**, v. 37 p. 111-118, 2009.

WILLIAMS TA, EMBLEY TM, HEINZ E. Informational gene phylogenies do not support a fourth domain of life for nucleocytoplasmic large DNA viruses. **PLoS One**.v. 6 e21080, 2011

XIAO, C.; CHIPMAN, P.R.; BATTISTI, A.J.; BOWMAN, V.D.; RENESTO, P.; RAOULT, D.; ROSSMANN, M.G. Cryo-electron microscopy of the giant Mimivirus. **J Mol Biol.**, v.353, p. 493–496, 2005.

XIAO, C.; KUZNETSOV, Y.G.; SUN, S.; HAFENSTEIN, S.L.; KOSTYUCHENKO, V.A.; CHIPMAN, P.R.; SUZAN-MONTI, M.; RAOULT, D.; MCPHERSON, A.;

YAMADA, T. Giant viruses in the environment: their origins and evolution. **Curr Opin Virol.** v. 1, p. 58-62, 2011

YAU, S.; LAURO, F.M.; DEMAERE, M.Z.; BROWN, M.V.; THOMAS, T.; RAFTERY, M.J.; ANDREWS-PFANNKOCH, C.; LEWIS, M.; HOFFMAN, J.M.; GIBSON, J.A.; CAVICCHIOLI, R. Virophage control of antarctic algal host-virus dynamics. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 108, p. 6163-6168, 2011.

YUTIN, N. & KOONIN, E. V. Pandoraviruses are highly derived phycodnaviruses. **Biology Direct**.v.8 p.25, 2013

YUTIN, N.; WOLF, Y.I.; RAOULT, D.; KOONIN, E.V. Eukaryotic large nucleocytoplasmic DNA viruses: clusters of orthologous genes and reconstruction of viral genome evolution **Virol J.**, v. 6, p.223, 2009.

ZAUBERMAN, N.; MUTSAFI, Y.; HALEVY, D.; SHIMONI, E.; KLEIN, E.; XIAO, C.; SUN, S.; MINSKY, A. Distinct DNA exit and packaging portals in the virus *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus. **PLoS Biol.**, v. 6, e114, 2008.

## 11. ANEXOS

### 11.1 Comprovante de registro para coleta de material botânico fúngico e microbiológico



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

#### Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico

|                 |                                   |
|-----------------|-----------------------------------|
| Número: 34293-1 | Data da Emissão: 22/04/2012 18:30 |
|-----------------|-----------------------------------|

#### Dados do titular

|                              |                     |
|------------------------------|---------------------|
| Nome: Jônatas Santos Abrahão | CPF: 062.825.466-05 |
|------------------------------|---------------------|

#### Ressalvas

|   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 2 | A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras. |
| 3 | O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 4 | É necessário a obtenção de anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como de consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 5 | Este documento não abrange a coleta de vegetais hidróbios, tendo em vista que o Decreto-Lei nº 221/1967 e o Art. 36 da Lei nº 9.605/1998 estabelecem a necessidade de obtenção de autorização para coleta de vegetais hidróbios para fins científicos..                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 6 | A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte <a href="http://www.icmbio.gov.br/sisbio">www.icmbio.gov.br/sisbio</a> - menu Exportação.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 7 | Este documento não é válido para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e c) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 8 | Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

#### Táxons registrados

| Nível taxonômico | Táxon(s) |
|------------------|----------|
| FILO             | Protozoa |

Este documento (Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 98546456



Página 1/1

## 11.2 Preparo de meio PYG

O meio de cultura PYG (meio proteose peptona extrato de levedura e glicose) é o meio utilizado para o cultivo das amebas de vida livre. Foram preparadas três soluções que foram misturadas e completadas para o volume de um litro. A primeira solução foi preparada num volume de 300mL com 8 uM de sulfato de magnésio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, Alemanha), 0,5 uM de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (Merck, Alemanha), 5 nM de sulfato de ferro amoniacal hexahidratado ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, Alemanha), 1,4 mM de fosfato dibásico de sódio heptahidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, Alemanha), 2,5 mM de fosfato monobásico de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Merck, Alemanha), 3,4 mM de citrato de sódio dihidratado ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, Alemanha) e misturado em agitador magnético até a completa solubilização. A segunda solução foi preparada com 20 g de protease peptona (extrato bactopeptona) (Merck, Alemanha) em 200ml de água, e foi agitada até se solubilizar. A terceira solução foi de 200 mL de água com 0,05 M de glicose (Merck, Alemanha). Após a mistura, o pH foi ajustado em 6,5 e o meio foi aliqotado, autoclavado e filtrado. O meio foi mantido em câmara fria até o momento de uso. Como controle de esterilidade uma amostra do meio foi incubada a 37°C.

### **11.3 Publicação da dissertação**

Campos, RK, Boratto, PV, Assis, FL, Aguiar, ER, Silva, LCF, Albarnaz, J, Dornas, FP, Trindade, GS, Ferreira, PCP, Marques, JT, Robert, C, Raoult, D, Kroon, EG, La Scola, B, Abrahão, JS. Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon. *Virology Journal* v. 11, p. 95, 2014.

### **11.4 Publicações relacionadas à dissertação**

Campos RK, Andrade KR, Ferreira PC, Bonjardim CA, La Scola B, Kroon EG, Abrahão JS. Virucidal activity of chemical biocides against mimivirus, a putative pneumonia agent. *Journal of Clinical Virology*. v. 55, p. 323-8, 2012.

Silva LC, Almeida GM, Oliveira DB, Dornas FP, Campos RK, La Scola B, Ferreira PC, Kroon EG, Abrahão JS. A resourceful giant: APMV is able to interfere with the human type I interferon system. *Microbes and infection*. V. 55, p. 323-8, 2013.

Dornas FP, Silva LC, Magno G, Campos RK, Boratto PV, Luiz AM, La Scola B, Peregrino PCP, Kroon EG, Abrahao JS. *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus stability in environmental and clinical substrates: Implications for virus detection and isolation. *Plos One*, v. 9, p. e87811, 2014.

# Divulgação Científica e (parte da) Repercurssão do Trabalho na Imprensa

The screenshot shows a Mozilla Firefox browser window displaying a news article on the 7thSpace.com website. The article title is "Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon". The article text discusses the discovery of a novel giant virus (SMBV) and its associated viroplasm (RNIV) in the Brazilian Amazon. It mentions that the SMBV genome is one of the largest genomes of any group A Mimivirus described to date. The article also includes a list of authors and a social media sharing section with a Twitter icon and a count of 5 tweets. The website layout includes a navigation menu on the right side with options like Home, New Account, Headlines, Medical News, Job Listings, Android Apps, iOS App Store, Family Zone, Audio/Video Chat, Business Area, Internet Buzz, Entertainment, Online Games, Music Zone, Script Directory, Online Shopping (US), Online Shopping (UK), Software Directory, Webmaster Tools, and Web Directory. There is also a search bar and a "Sign In" button. The browser's address bar shows the URL: 7thspace.com/headlines/460271/samba\_virus\_a\_novel\_mimivirus\_from\_a\_giant\_rain\_forest\_the\_brazilian\_amazon.html. The system tray at the bottom shows the date and time as 13:14 on 15/05/2014.

Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

samba virus - Pesquisa Google

7thspace.com/headlines/460271/samba\_virus\_a\_novel\_mimivirus\_from\_a\_giant\_rain\_forest\_the\_brazilian\_amazon.html

Mais visitados Primeiros passos

7th Space INTERACTIVE

InteractiveWeb

Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon

The identification of novel giant viruses from the nucleocytoplasmic large DNA viruses group and their viroplasm has increased in the last decade and has helped to shed light on viral evolution. This study describes the discovery, isolation and characterization of Samba virus (SMBV), a novel giant virus belonging to the Mimivirus genus, which was isolated from the Negro River in the Brazilian Amazon.

We also report the isolation of an SMBV-associated viroplasm named Rio Negro (RNIV), which is the first Mimivirus viroplasm to be isolated in the Americas. Methods/results Based on a phylogenetic analysis, SMBV belongs to group A of the putative Megavirales order, possibly a new virus related to Acanthamoeba polyphaga mimivirus (APMV). SMBV is the largest virus isolated in Brazil, with an average particle diameter about 574Å nm.

The SMBV genome contains 938 ORFs, of which nine are ORFans. The 1,213.6 kb SMBV genome is one of the largest genomes of any group A Mimivirus described to date.

Electron microscopy showed RNIV particle accumulation near SMBV and APMV factories resulting in the production of defective SMBV and APMV particles and decreasing the infectivity of these two viruses by several logs.

Conclusion: This discovery expands our knowledge of Mimiviridae evolution and ecology.

Author: Rafael K Campos Paulo V Boratto Felipe L Assis Eric RGR Aguiar Lorena CF Silva Jonas D Albarnaz Fabio P Domas Ciliane S Trindade Paulo F Ferreira João T Marques Catherine Robert Didier Raouil Erna G Kroon Bernard La Scala Jánatas S Abrahão

Credits/Source

Passagem para Montreal saindo de ...

Decolar.com

\$792,00

Melhor Preço para sua Viagem

Published on: 2014-05-14

Tweet (5) +1 (0)

News Provider: 7thSpace Interactive

Copyright by the authors listed above - made available via BioMedCentral (Open Access). Please make sure to read our disclaimer prior to contacting 7thSpace Interactive. To contact our editors, visit our online helpline. If you wish submit your own press release, click here.

Navigation

- Home
- New Account
- Headlines
- Medical News
- Job Listings
- Android Apps
- iOS App Store
- Family Zone
- Audio/Video Chat
- Business Area
- Internet Buzz
- Entertainment
- Online Games
- Music Zone
- Script Directory
- Online Shopping (US)
- Online Shopping (UK)
- Software Directory
- Webmaster Tools
- Web Directory

Search

Google Custom Search

My 7thSpace

Username

Password

Sign In

13:14 15/05/2014

Brasileiros descobrem vírus gigante na Amazônia - Curiosidade - Mídia MS - O seu jornal em Mato Grosso do Sul - Notícias de Campo Grande e interior do MS - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

giant samba virus - Pesquisa Google | Brasileiros descobrem vírus gigante n... | Virusworld | Sign in - Google Accounts

www.midiams.com.br/noticia/curiosidade/brasileiros-descobrem-virus-gigante-na-amazonia/82501

Mais visitados | Primeiros passos

Facebook | Campo Grande - Sexta-feira, 16/05/2014 - 08h34

Home » Notícias » Curiosidade

## Notícias

Compartilhe: [f Curtir](#) 0 | [t Tweet](#) 0 | [p Pin it](#) | [s Share](#)

### Brasileiros descobrem vírus gigante na Amazônia

Batizado de Samba, ele é doze vezes maior do que o vírus da dengue

15/05/2014 às 10:37  
Veja / A. Colman

Um novo vírus gigante foi encontrado nas águas do Rio Negro, na Amazônia brasileira. O vírus batizado de Samba é o maior já identificado no país: ele tem doze vezes o tamanho do vírus da dengue e 100 vezes mais material genético. A descoberta foi feita por pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em parceria com a Universidade Aix-Marseille, na França, e o artigo que relata o achado foi publicado nesta quarta-feira, no periódico *Virology*.

Em 2011, os pesquisadores coletaram 35 amostras de água do Rio Negro, em uma rota de 65 quilômetros, partindo de Manaus. Analisando as amostras em laboratório, os cientistas conseguiram isolar o vírus dentro de uma ameoba — para se reproduzir, os vírus precisam parasitar outros organismos.

Segundo Jônatas Abrahão, professor de virologia da UFMG e principal autor do estudo, uma das possíveis explicações para o tamanho do Samba é a quantidade elevada de material genético necessária para a adaptação do vírus ao local onde ele vive. "O Rio Negro é um meio ácido, diferente de outros rios", disse o pesquisador ao site de VEJA.

O vírus Samba codifica 1 000 proteínas, é composto por 1,2 milhão de pares de bases de DNA e tem 600 nanômetros de tamanho (cada nanômetro equivale ao milionésimo de um milímetro), ante 50 nanômetros do vírus da dengue.

#### Tamanho não é documento

Ainda não foi possível definir se esse vírus pode trazer consequências ao homem, mas Abrahão explica que o fato de ser maior e mais complexo não o torna mais perigoso. Os

Assine nossos feeds

Distribuidora **tu ípia**

(67) 3042.0369 | (67) 8413.0369  
Rua Abraão Júlio Rahe, 525 (esq. c/ 13 de junho)

#### Multimídia

Best Dog Ever. Dog Guards Owner's Bike!

Cão pega uma carona com dono após cuidar sua bicicleta. Confira!

[Voltar ao Topo](#)

Distribuidora **tu ípia**

(67) 3042.0369 | (67) 8413.0369  
Rua Abraão Júlio Rahe, 525 (esq. c/ 13 de junho)

Tudo sobre Vírus - vídeos, imagens, fotos, links, informações e notícias - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

giant samba virus - Pesquisa Google | Tudo sobre Vírus - vídeos, imagens, f... | Brasileiros descobrem vírus gigante n... | Virusworld | Sign in - Google Accounts

informados.info/saude/Virus/

Mais visitados | Primeiros passos

Informados.info | Como fazer | Economia | Entretenimento | Esporte | Mistério | Mulher | Negócios | Política | Religião | Saúde | Tecnologia

Cotação do dólar | Cotação do euro

## Navegação

- Como fazer
  - Como fazer arroz
  - Como fazer macarrão
  - Como fazer pipoca
  - Como fazer sites
  - Como fazer suco de tomate
- Economia
  - Agronegócio
  - Banco central
  - Cartões de crédito
    - Anuidade
    - Cadastro Crédito
    - Credicard
    - Itaucard
    - MasterCard
    - Ourocard
    - Segunda via Cartão de crédito
    - Visa
  - Dólar
  - Empregos
  - Empréstimos
  - Euro
  - Faculdades
  - Financiamentos
  - Imposto de renda
  - Loteria
  - Mega Sena
  - Vagas
- Entretenimento
  - Adeus
    - Hebe Camargo
    - Whitney Houston
  - Chico Anísio
  - Filmes

## Tudo sobre Vírus

Você está em: Saúde » Vírus »

1 2 24

Tweet 8+1 Like Share

Notícias, imagens, fotos e vídeos sobre Vírus.  
Acompanhe o que de mais importante aconteceu sobre Vírus recentemente.

**AirFastTickets**  
airfasttickets.com  
Compare flights, hotels & packages. No Service Fee. Low Price Guarantee

## Notícias sobre Vírus

**Cientistas descobrem vírus gigante no Rio Negro e o batizam de ...**  
Um grupo de pesquisadores identificou um **vírus** gigante na Amazônia, batizado de Samba (SMBV). Trata-se do maior **vírus** isolado no país, possuindo um dos maiores genomas de sua família, os mimivírus. O achado foi publicado na revista científica ...

**Médicos conseguem curar câncer com vírus modificado do sarampo**  
Pesquisadores de Minnesota, nos Estados Unidos, conseguiram acabar com o câncer de sangue de uma mulher injetando-lhe uma dose cavalari de uma cepa geneticamente modificada do **vírus** do sarampo, informou a Clínica Mayo em um estudo ao qual a ...

**Epidemia » Surto de vírus Chikungunya faz soar alarme na ...**  
Um surto de Chikungunya, que causa febre e dores nas articulações, mantém em alerta a República Dominicana, onde foram registrados 10.000 casos deste **vírus** - raramente mortal -, transmitido pelo mesmo mosquito causador da dengue. O surto afeta 20 ...

09:37 16/05/2014

Folha de S.Paulo - Internacional - En - Science and Health - Giant Virus is Discovered in the Amazon - 15/05/2014 - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

giant samba virus - Pes... x Folha de S.Paulo - Inter... x Information Génomiqu... x Tudo sobre Virus - vide... x Brasileiros descobrem v... x Virusworld x Sign in - Google Accou... x +

www1.folha.uol.com.br/internacional/en/scienceandhealth/2014/05/1454707-giant-virus-is-discovered-in-the-amazon.shtml

Mais visitados m Primeiros passos

UOL Assine 0800 703 3000 SAC Bate-papo E-mail BOL Notícias Esporte Entretenimento Mulher Rádio TV UOL Shopping

ADVERTISING

Cadastre seu currículo. CLIQUE FOLHA DE S.PAULO

ADVERTISING

LIGUE GRÁTIS 0800 602 2510 ASSINE JÁ

Meet Folha de S.Paulo  
Conozca la Folha de S.Paulo  
Folha de S.Paulo in Portuguese

**FOLHA DE S.PAULO**

NOTÍCIAS EN ESPAÑOL  
NOTÍCIAS EM PORTUGUÊS

Follow us:  

FOLLOW US

Follow @folha\_english

Find us on Facebook

FOLHA Folha de S.Paulo (english) Like

FOLHA Folha de S.Paulo (english)  
Hosting a World Cup Does Not Help Local Coaches to Lead Foreign Teams.  
http://uol.com/bsdDB6  
Photo: AFP

SECTIONS

Opinion

Brazil

World

**Giant Virus is Discovered in the Amazon**

05/15/2014 - 08H40

 Curtir 2  Tweet 5  Listen to text

REINALDO JOSÉ LOPES  
REPORTS FOR FOLHA

ADVERTISING

LEVE A EMOÇÃO DO FUTEBOL SEMPRE COM VOCE

The waters of the Rio Negro, near Manaus, are home to the largest virus ever discovered in Brazil. It is a microscopic parasite. This may not sound very big, but relatively speaking, the virus is bigger and even more complex in DNA terms than some bacteria.

Known as SMBV, or simply the Samba virus, it has been discovered by researchers at the Federal University of Minas Gerais (UFMG, in its Portuguese acronym), working with some French colleagues. They published their findings in Virology Journal.

The discovery is important, both in terms of human health - since giant viruses like Samba may be capable of causing pneumonia - and in terms of understanding more about the nature of viruses. Giant viruses are rare, though they are not necessarily more dangerous on account of their size.

The first relative of Samba was discovered in 1992, in the water of a drinking fountain at a hospital in Bradford, United Kingdom. It was observed that the virus infected amoebas, microorganisms with relatively complex cells.

After taking 35 samples from the Rio Negro, along a 65km stretch near Manaus, the team managed to isolate the SMBV in a laboratory.

"Probably it is infecting other organisms, but we still haven't discovered which exactly," said Jônatas Santos Abrahão, from UFMG's Department of Microbiology, one of the

09:41 16/05/2014



Folha de S.Paulo - Internacional - En - Science and Health - Giant Virus is Discovered in the Amazon - 15/05/2014 - Mozilla Firefox

giant samba virus - Pes... | Folha de S.Paulo - Inter... | Information Génomiqu... | Tudo sobre Virus - vide... | Brasileiros descobrem v... | Virusworld | Sign in - Google Accou... | +

www1.folha.uol.com.br/internacional/en/scienceandhealth/2014/05/1454707-giant-virus-is-discovered-in-the-amazon.shtml


Mais visitados | Primeiros passos

http://uol.com/bsdDB6  
Photo: AFP

**SECTIONS**

- Opinion
- Brazil
- World
- Business
- São Paulo
- Science & Health**
- Sports
- Culture
- Travel
- Ombudsman
- World Cup 2014

**LATEST PHOTO GALLERIES**



French colleagues. They published their findings in Virology Journal.

The discovery is important, both in terms of human health - since giant viruses like Samba may be capable of causing pneumonia - and in terms of understanding more about the nature of viruses. Giant viruses are rare, though they are not necessarily more dangerous on account of their size.

The first relative of Samba was discovered in 1992, in the water of a drinking fountain at a hospital in Bradford, United Kingdom. It was observed that the virus infected amoebas, microorganisms with relatively complex cells.

After taking 35 samples from the Rio Negro, along a 65km stretch near Manaus, the team managed to isolate the SMBV in a laboratory.

"Probably it is infecting other organisms, but we still haven't discovered which exactly," said Jônatas Santos Abrahão, from UFMG's Department of Microbiology, one of the authors of the study.

"We have also seen that it can multiply itself in human blood cells, similar to how it behaves in amoebas."

The team has still not dismissed the possibility that the virus may cause pneumonia in humans. Like other viruses, Samba is like a kind of organic Lego piece. It has a shell covered with fibers, and is five times larger than the flu virus, for example.

The DNA of the parasite is found under various layers of protection, formed by 1.21 million chemical "letters", about half a thousandth the size of the human genome. It is a more complex genome than several bacteria.

However, what the virus does not have, unlike bacteria and other living organisms, is its own cell. To reproduce, Samba has to "hijack" the machinery of the cell it invaded.

**HITCHING A RIDE**

More proof of SMBV's relatively large size is the discovery that another, smaller virus is capable of invading it. This is the RNV, or Rio Negro, classified as a 'virophage' - literally, a virus eater.

Comparisons between the DNA of all large groups of living beings show that the ancestry of Samba and other giant viruses is extremely old. This suggests that these viruses may have participated, in some way, in the origins of life on earth.

However, Abrahão considers this unlikely, because these giant viruses do not seem capable of survival without the help of cellular organisms.

"What may have happened is that one day, they came from cellular organisms, but they came to multiply themselves without them, parasitizing other cells," he says.

Translated by TOM GATEHOUSE

[Read the article in the original language](#)

09:42 16/05/2014

02.pdf (objeto application/pdf) - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

estado de minas jornal samba virus - ... 02.pdf (objeto application/pdf) Nacional - Estado de Minas Saúde Plena | Beleza, nutrição, medici... +

www.jornaldebrasil.com.br/edicaodigital/pages/20140514-jornal/pdf/02.pdf

Mais visitados Primeiros passos

---

**2** | JORNAL DE BRASÍLIA | Brasília, quarta-feira, 14 de maio de 2014

---

# Em Tempo.

Os últimos fatos do dia

---

**Descoberta**

## Vírus "Samba" no rio Negro

REUTERS/BRUNO KELLY

As águas do rio Negro, nas vizinhanças de Manaus, abrigam o maior vírus já descoberto no Brasil: um parasita microscópico comparativamente tão grande que chega a superar algumas bactérias em tamanho e complexidade do DNA.

Batizado de SMBV, ou vírus Samba, ele foi descrito por pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em parceria com colegas franceses, na revista especializada *Virology Journal*. **A descoberta pode ser importante tanto para a saúde humana - já que alguns vírus gigantes como o Samba parecem ser capazes de causar pneumonia - quanto para entender me-**

**lhora a natureza dos vírus.**

Vírus gigantes são raros, mas não são necessariamente mais perigosos por serem grandes. O primeiro parente do Samba a ser bem estudado foi descoberto em 1992, na água de um bebedouro de hospital em Bradford, Reino Unido. Verificou-se então que esse vírus infectava amebas, micro-organismos que possuem células relativamente complexas.

Após recolher 35 amostras de água do rio, numa rota de 65 km a partir de Manaus, a equipe conseguiu isolar o SMBV.

"Provavelmente ele está infectando outras coisas na natureza, mas ainda não sabemos qual seria esse hospedeiro", contou Jônatas Santos Abrilhão, da UFMG.



Foram colhidas 35 amostras de água do rio, em rota de 65 km a partir de Manaus (AM)

### Loteria

**Dupla-Sena - Teste 1280**

**1ª Faixa**  
 22 25 34 37 41 46

**2ª Faixa**  
 01 02 04 14 29 40

**Timemanã - Teste 574**  
 12 33 43 52 59 64 65

Time do coração - ITUANO/SP

**Quina - Teste 3487**  
 04 08 43 76 79

Resultados extraídos do site da Caixa Econômica Federal - www.cef.gov.br

**Santa Catarina**  
 90 2000000

10:04 16/05/2014

Carlos Lima - Jornal Online | Pesquisadores descobrem vírus gigante na Amazônia - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

estado de minas jornal samba virus - ... Carlos Lima - Jornal Online | Pesquisa... 02.pdf (objeto application/pdf) Nacional - Estado de Minas Saúde Plena | Beleza, nutrição, medici...

www.cjornal.com.br

Mais visitados Primeiros passos

página inicial últimas notícias blogs articulistas videos

Clique e ouça a nossa rádio

Voce está em: Editorias > Saúde > Pesquisadores descobrem vírus gigante na Amazônia

## Pesquisadores descobrem vírus gigante na Amazônia

Postado 14/05/2014 às 11h54min Mudar tamanho da letra A+ A-

Compartilhe Curtir Tweetar 0



Estudiosos da Universidade de Minas Gerais (UFMG) descobriram nas águas do rio Negro, nas vizinhanças de Manaus, o maior vírus já encontrado no Brasil. De acordo com os estudiosos, o parasita microscópico é tão grande que chega a superar algumas bactérias em tamanho e complexidade do DNA. Reportagem da Folha informa que o SMBV, ou simplesmente vírus Samba, foi descrito por pesquisadores da UFMG em parceria com colegas franceses, na revista especializada "Virology Journal". Os estudiosos estimam que a descoberta pode representar um passo importante tanto para a saúde humana – já que alguns vírus gigantes como o Samba parecem ser capazes de causar pneumonia – quanto para entender melhor a natureza dos vírus. Segundo os especialistas, vírus gigantes são raros, mas não são necessariamente mais perigosos por serem grandes. A matéria ainda diz que o primeiro parente do Samba a ser bem estudado foi descoberto em 1992, na água de um bebedouro de hospital em Bradford, Reino Unido. Naquele estudo, verificou-se que o vírus infectava amebas, micro-organismos que possuem células relativamente complexas.

Doenças

Segundo um dos autores do estudo, Jônatas Santos Abrahão, do Departamento de Microbiologia da



Topo

10:05 16/05/2014

pesquisadores da UFMG sequenciam genoma de vírus gigante encontrado na Amazônia - Jornal Brasil - A boa notícia on-line - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

jornal samba virus amazonas ... x Pesquisadores da UFMG sequ... x Carlos Lima - Jornal Online | ... x 02.pdf (objeto application/pdf) x Nacional - Estado de Minas x Saúde Plena | Beleza, nutrição... x +

www.jornalbrasil.com.br/?pg=desc-noticias&id=133479&nome=Pesquisadores%20da%20UFMG%20sequenciam%20genoma%20de%20v%EDrus%20gigante%20 Busca aqui.

Mais visitados m Primeiros passos

# JornalBrasil

A BOA NOTÍCIA ON-LINE

Arte e Cultura | CIÊNCIA&TECNOLOGIA | ECONOMIA | EDUCAÇÃO | ESPORTES | INTERNACIONAL | MEIO AMBIENTE | POLÍTICA | SAÚDE |

## Pesquisadores da UFMG sequenciam genoma de vírus gigante encontrado na Amazônia

14/05/2014 Quarta-Feira, Dia 14 de Maio de 2014 as 14

Nas águas ácidas do Rio Negro, em plena floresta amazônica, pesquisadores da UFMG encontraram um vírus gigante, descoberta que abre vastos caminhos no universo dos seres microscópicos.

Não bastassem suas proporções incomuns, o Samba Vírus – como foi batizado – possui genoma complexo, com genes só encontrados em células e que nenhum vírus de outra espécie codifica. Além disso, sobrevive em ecossistema especial cuja dinâmica parece garantir uma existência equilibrada e harmônica com a ameiba que o abriga e com um tipo pequeno de vírus que o acompanha de perto.

Maior vírus isolado no país, o Samba também detém o maior genoma de vírus já sequenciado no Brasil, informa o professor Jônatas Abrahão, do Departamento de Microbiologia do ICB, coordenador do grupo responsável pela pesquisa, cujos resultados acabam de ser publicados na revista *Virology Journal*.

Os dados chegam à comunidade acadêmica exatamente dez anos depois da publicação do estudo francês que caracterizou o *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV), primeiro vírus gigante a ser identificado no mundo.

Segundo Jônatas Abrahão, quando isolado, ainda no começo dos anos 1990, o APMV foi confundido com uma bactéria, e só na década seguinte foi corretamente caracterizado, dando início a uma série de estudos genéticos que revelaram a existência dessa nova família – os mimivírus.

“Comparada ao vírus da poliomielite, a proporção seria a mesma que entre um ser humano e o maior dinossauro já descrito no planeta”, estima o professor, referindo-se ao tamanho dos vírus gigantes, que oferecem estímulo à pesquisa não apenas pela dimensão, mas sobretudo pela complexidade genômica e estrutural.

O genoma do Samba tem 50 mil pares de bases a mais que o do vírus protótipo APMV, que possui cerca de 1,2 milhão de pares de bases. “Percentualmente a diferença parece pequena, mas pode corresponder a diversos novos genes”, diz o professor. Tal diferença pode indicar, por exemplo, fatores relacionados ao ambiente em que ele foi isolado, como a intensa insolação e a acidez do rio, que é causada pelos resíduos de decomposição da floresta.

Rio Negro  
Outro aspecto focalizado pela pesquisa foi a inesperada presença – no entorno do Samba, dentro da ameiba que ele habita – de partículas negras, que se mostraram eletrodensas na microscopia. “São virófagos já descritos na literatura como um vírus que infecta vírus gigantes”, explica o pesquisador.

“É um mundo novo. O Rio Negro Vírus, como passamos a chamar essas partículas, assim como os outros virófagos previamente descritos, quebrou paradigmas, mudou nossa visão sobre virologia”, completa Abrahão. Sua ação foi testada contra o APMV e, de fato, foi possível perceber que esse virófago pode causar anomalias na formação e reduzir enormemente a multiplicação do mimivírus.

“Nossa hipótese é que o Rio Negro Vírus tem papel ecológico ao controlar a expansão do Samba Vírus, pois se houvesse vírus gigantes afetando ameibas, livremente e de forma intensa, estas poderiam se extinguir localmente, e os vírus gigantes desapareceriam, por falta de hospedeiro”, explica Jônatas

10:08 16/05/2014

Pesquisadores da UFMG sequenciam genoma de vírus gigante encontrado na Amazônia - Jornal Brasil - A boa notícia on-line - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

jornal samba virus amazonas ... x | J Pesquisadores da UFMG sequ... x | Carlos Lima - Jornal Online | ... x | 02.pdf (objeto application/pdf) x | Nacional - Estado de Minas x | Saúde Plena | Beleza, nutrição... x | +

www.jornalbrasil.com.br/?pg=desc-noticias&id=133479&nome=Pesquisadores%20da%20UFMG%20sequenciam%20genoma%20de%20v%EDrus%20gigante%20 Google

Mais visitados **Primeiros passos**

"Nossa hipótese é que o Rio Negro Vírus tem papel ecológico ao controlar a expansão do Samba Vírus, pois se houvesse vírus gigantes afetando amebas, livremente e de forma intensa, estas poderiam se extinguir localmente, e os vírus gigantes desapareceriam, por falta de hospedeiro", explica Jônatas Abrahão. A pesquisa sugere que os três elementos – ameba, vírus gigante e viróforo – estejam associados nesse ecossistema especial para manter uma coexistência equilibrada.

**Pneumonia**  
O grupo liderado por Abrahão também desenvolve pesquisa em parceria com a professora Wanessa Clemente, do Hospital das Clínicas da UFMG, em que se investiga a presença de vírus gigantes em setores de isolamento respiratório, onde ficam internados pacientes com infecções respiratórias graves ou específicas, como tuberculose e pneumonia.

"Temos encontrado um percentual de vírus maior no isolamento respiratório do que em outros setores do hospital", revela o professor do ICB, lembrando que em 50% dos casos de pneumonia registrados no mundo o agente etiológico não é conhecido.

"Os mimivírus estão entrando nesse debate porque provavelmente fazem parte de uma parcela – pequena ou grande – desses 50% cuja causa é desconhecida. Embora não se possa associar o Samba à pneumonia, os vírus gigantes não podem ser descartados no estudo das infecções em hospitais", alerta o professor.

Ele explica que as amebas – hospedeiras dos mimivírus – por estarem presentes nas águas, no solo e em ambientes urbanos, até mesmo dentro de hospitais, em teoria, podem funcionar como plataformas biológicas de multiplicação de vírus gigantes, como já foi demonstrado em algumas bactérias. Segundo Abrahão, de forma geral as amebas são extremamente resistentes a agentes químicos e físicos de controle, como desinfetantes e raios ultravioletas utilizados em alguns ambientes hospitalares.

A descoberta do Samba Vírus não surgiu por acaso. Interessado no tema, Jônatas Abrahão (em foto de Foca Lisboa) organizou em 2011 uma expedição a Manaus, para fazer prospeção de vírus gigantes. "Percorremos cerca de 50 quilômetros no Rio Negro, coletando amostras", relembra o pesquisador, destacando que, embora a Amazônia seja símbolo da beleza e da biodiversidade no país, quase não há dados sobre vírus relacionados à região.

Outros biomas figuram no trabalho de prospeção liderado por Abrahão. "Estamos provando que os vírus gigantes existem em todos os ambientes – temos coletado amostras em lagoas urbanas e de solos em várias regiões do país", informa.

Entre os mimivírus já isolados, mas ainda não caracterizados geneticamente pelo grupo, estão o Niemayer Vírus, encontrado na Lagoa da Pampulha, em frente ao Museu de Artes; e o Cipó Vírus, localizado na Serra do Cipó. "Onde há matéria orgânica, como lagoas, há amebas. E amebas podem conter vírus gigantes. A lógica é essa", diz o pesquisador, que também está investigando a presença desses microrganismos no Pantanal mato-grossense.

**Quarto domínio**  
Até a descoberta dos mimivírus, os vírus eram seres que não se enquadravam na classificação proposta pela ciência para entender as linhagens primárias de vida. Estudo elaborado no final dos anos 1970, nos Estados Unidos, a respeito dos primeiros passos da história evolutiva da vida, a partir de sequências de DNA, apresentou tabela com uma matriz de similaridade entre trechos das sequências do RNA ribossomal de diferentes organismos e dividiu as formas de vida celular em três grupos, denominados domínios da vida.

Os três domínios são Eubacteria, que inclui as bactérias; Archaea, grupo que congrega os procariontes não enquadrados na classificação anterior; e Eukaria, que reúne todos os eucariontes, ou seres vivos com núcleo celular organizado. Tal classificação não inclui os vírus, devido à ausência neles de algumas das características definidoras de vida. "A existência dos vírus gigantes fortaleceu a proposta de um quarto domínio", comenta Jônatas Abrahão.

Artigo: Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon  
Autores: Rafael K. Campos, Paulo V. Boratto, Felipe L. Assis, Eric RGR Aguiar, Lorena CF Silva, Jonas D. Albarnaz, Fabio P. Dornas, Gliliane S. Trindade, Paulo P. Ferreira, João T. Marques, Catherine Robert, Didier Raoult, Erna G. Kroon, Bernard La Scola, Jônatas S. Abrahão.

Fonte: UFMG

10:09 16/05/2014

Jornal da Ciência - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

jornal samba virus ama... x Jornal da Ciência x Pesquisadores da UFM... x Carlos Lima - Jornal Onl... x 02.pdf (objeto applicat... x Nacional - Estado de Mi... x Saúde Plena | Beleza, nu... x +

www.jornaldaciencia.org.br/Detaile.php?id=93232

Mais visitados Primeiros passos

# JORNAL da CIÊNCIA

Órgão da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência

SB  
PC

HOME NOTÍCIAS ÚLTIMAS EDIÇÕES SERVIÇOS

Edição impressa Notícias Sexta, 16 de maio de 2014

**COMUNICADO**

JC e-mail 4951, de 14 de maio de 2014  
**26. Vírus gigante é descoberto na Amazônia**  
*Batizado de SMBV, ele foi descrito por pesquisadores da UFMG*

As águas do rio Negro, nas vizinhanças de Manaus, abrigam o maior vírus já descoberto no Brasil, um parasita microscópico comparativamente tão grande que chega a superar algumas bactérias em tamanho e complexidade do DNA.

Batizado de SMBV, ou simplesmente vírus Samba, ele foi descrito por pesquisadores da UFMG (Universidade Federal de Minas Gerais), em parceria com colegas franceses, na revista especializada "Virology Journal".

A descoberta pode ser importante tanto para a saúde humana - já que alguns vírus gigantes como o Samba parecem ser capazes de causar pneumonia - quanto para entender melhor a natureza dos vírus.

Vírus gigantes são raros, mas não são necessariamente mais perigosos por serem grandes. O primeiro parente do Samba a ser bem estudado foi descoberto em 1992, na água de um bebedouro de hospital em Bradford, Reino Unido. Verificou-se então que esse vírus infectava amebas, micro-organismos que possuem células relativamente complexas.

Após recolher 35 amostras de água do rio Negro, numa rota de 65 km a partir de Manaus, a equipe conseguiu isolar o SMBV em laboratório.

"Provavelmente ele está infectando outras coisas na natureza, mas ainda não sabemos qual seria esse hospedeiro", contou à **Folha** um dos autores do estudo, Jônatas Santos Abrahão, do Departamento de Microbiologia da UFMG. "Vimos que ele também é capaz de se multiplicar em células do sangue humano, de forma similar ao que acontece nas amebas." Por enquanto, não se pode descartar a possibilidade de que ele também cause pneumonia em humanos.

Anterior  
 25. Concurso prevê apresentação de tese de doutorado em até 3 minutos

Próxima  
 27. Brasileiro cria projeto de localização de estrelas e chama atenção de Nobel de Física em feira mundial

Índice de Notícias  
 - imprimir  
 - enviar  
 - comentário

Redes Sociais  
 f t

JC 758, de 9/5/14

[Acesse aqui para ler a edição completa JC 758 Impresso](#)

Charges

JC impresso - edições anteriores

10:10 16/05/2014

Jornal da Ciência - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

jornal samba virus ama... x Jornal da Ciência x J Pesquisadores da UFM... x Carlos Lima - Jornal Onl... x 02.pdf (objeto applicat... x Nacional - Estado de Mi... x Saúde Plena | Beleza, nu... x +

www.jornaldaciencia.org.br/Detaile.php?id=93232

Mais visitados Primeiros passos

Charges



JC impresso - edições anteriores

estudado foi descoberto em 1992, na água de um bebedouro de hospital em Bradford, Reino Unido. Verificou-se então que esse vírus infectava amebas, micro-organismos que possuem células relativamente complexas.

Após recolher 35 amostras de água do rio Negro, numa rota de 65 km a partir de Manaus, a equipe conseguiu isolar o SMBV em laboratório.

"Provavelmente ele está infectando outras coisas na natureza, mas ainda não sabemos qual seria esse hospedeiro", contou à **Folha** um dos autores do estudo, Jônatas Santos Abrahão, do Departamento de Microbiologia da UFMG. "Vimos que ele também é capaz de se multiplicar em células do sangue humano, de forma similar ao que acontece nas amebas." Por enquanto, não se pode descartar a possibilidade de que ele também cause pneumonia em humanos.

Como os demais vírus, o Samba lembra uma espécie de "Lego" de moléculas orgânicas. Possui uma carapaça coberta com um matagal de fibras - o conjunto é cinco vezes maior que um vírus da gripe, por exemplo. Debaixo de várias camadas de proteção está o DNA do parasita, formado por 1,21 milhão de "letras" químicas, mais ou menos meio milésimo do tamanho do genoma humano. Trata-se de um genoma mais complexo que o de várias bactérias.

O que os vírus não têm, diferentemente das bactérias e de outros seres vivos, porém, é uma célula própria. Para se reproduzir, o Samba precisa "sequestrar" o maquinário da célula que invade.

**Carona**

Outra prova de que o SMBV é um gigante do mundo viral é a descoberta de que outro vírus menor é capaz de parasitá-lo. Trata-se do RNV, ou Rio Negro, conhecido pelo termo técnico de "virófago" -literalmente, um devorador de vírus.

Comparações entre o DNA de todos os grandes grupos de seres vivos indicam que a linhagem representada pelo Samba e por outros vírus gigantes é extremamente antiga, o que poderia indicar a participação desses seres, de alguma maneira, na própria origem dos seres vivos. Abrahão considera essa ideia improvável, porque eles não parecem ser capazes de sobreviver sem a ajuda de organismos com células.

"O que pode ter acontecido é que, um dia, eles podem ter vindo de organismos celulares, mas passado a se multiplicar sem eles, parasitando outras células", afirma.

(Folha de São Paulo)  
<http://www1.folha.uol.com.br/ciencia/2014/05/1453987-virus-gigante-e-descoberto-na-amazonia.shtml>

10:10  
16/05/2014

Cientistas descobrem vírus gigante no Rio Negro e o batizam de 'Samba' - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

jornal samba virus ... x Cientistas descobre... x Jornal da Ciência x Pesquisadores da U... x Carlos Lima - Jornal... x 02.pdf (objeto appli... x Nacional - Estado d... x Saúde Plena | Belez... x +

noticias.ambientebrasil.com.br/clipping/2014/05/16/105317-cientistas-descobrem-virus-gigante-no-rio-negro-e-o-batizam-de-samba.html

Mais visitados 11 Primeiros passos

Anuncie no portal | Quem somos | Contato

**ambientebrasil** **CURSOS DE FORMAÇÃO RÁPIDA** Verifique as condições especiais para leitores do portal Ambiente Brasil. **INSCRIÇÕES ABERTAS**

16 de Maio de 2014 Assine a Legislação Ambiental Assine o Jornal Diário Portal Notícias Ambientes Legislação Ambiental

10:11 Home Ambientes Notícias Blog Concursos Fórum Legislação Jornal Twitter

**16 / 05 / 2014** Cientistas descobrem vírus gigante no Rio Negro e o batizam de 'Samba'

CLIPPING

Um grupo de pesquisadores identificou um vírus gigante na Amazônia, batizado de Samba (SMBV). Trata-se do maior vírus isolado no país, possuindo um dos maiores genomas de sua família, os mimivírus. O achado foi publicado na revista científica "Virology Journal".

A descoberta do vírus, que habita as amebas, ocorreu a partir de uma expedição conduzida em 2011 que tinha o objetivo específico de buscar vírus gigantes. Ao todo, 35 amostras de água foram coletadas no Rio Negro ao longo de uma rota de 65 quilômetros a partir de Manaus.

Segundo o cientista Jônatas Abrahão, esse trabalho de prospecção procurou provar que os vírus gigantes, ou mimivírus, estão em todos os ambientes. "Onde há matéria orgânica, como lagoas, há amebas. E amebas podem conter vírus gigantes", diz o pesquisador, em nota divulgada pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

O primeiro vírus gigante já descoberto – o *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV) – foi observado pela primeira vez em 1992, mas foi um estudo publicado em 2003 que o caracterizou como um vírus gigante.

Esse tipo de vírus desperta interesse principalmente pela complexidade de seu genoma. No caso do vírus Samba, seu genoma apresenta 50 mil pares de bases a mais do que o do APMV, que possui no total 1,2 milhões de pares de bases.

A família dos mimivírus também é investigada por seu possível papel em infecções respiratórias em unidades de internação hospitalar. Eles podem estar envolvidos, por exemplo, nos casos de pneumonia com causa desconhecida.

**Vírus que infecta vírus** – Junto ao vírus Samba, os cientistas também identificaram um vírus menor, batizado de Rio Negro, que atua como um parasita do vírus gigante.

**Notícias mais lidas**

- Estudo relaciona câncer de mama a produtos químicos de uso cotidiano posted on maio 13, 2014
- Cães são 4 vezes melhores em detectar câncer que exames posted on maio 14, 2014
- Múmias achadas nos EUA podem conter o vírus da varíola, um dos mais mortais posted on maio 9, 2014
- Chile cria purificador de água que pode ser esperança para América e África posted on maio 15, 2014
- EXCLUSIVO: O perigo de esquentar comida em recipientes plásticos, no forno de microondas, é real posted on junho 22, 2008
- Arábia Saudita anuncia mais 13 mortes por vírus Mers posted on maio 12, 2014
- Dilma anuncia regulamentação do Cadastro Ambiental Rural posted on maio 5, 2014
- Principais marcos históricos mundiais da educação ambiental posted on setembro 11, 2007
- Derretimento na Antártica Ocidental é irreversível, afirmam cientistas posted on maio 14, 2014
- Rede fluvial transportará resíduos sólidos no interior do Amazonas posted on maio 10, 2014

10:11 16/05/2014



Cientistas descobrem vírus gigante no Rio Negro e o batizam de 'Samba' - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

jornal samba virus ... x Cientistas descobre... x Jornal da Ciência x Pesquisadores da U... x Carlos Lima - Jornal... x 02.pdf (objeto appli... x Nacional - Estado d... x Saúde Plena | Belez... x +

noticias.ambientebrasil.com.br/clipping/2014/05/16/105317-cientistas-descobrem-virus-gigante-no-rio-negro-e-o-batizam-de-samba.html

Mais visitados 11 Primeiros passos

10:12 Home Ambientes Notícias Blog Concursos Fórum Legislação Jornal Twitter

16/05/2014 Cientistas descobrem vírus gigante no Rio Negro e o batizam de 'Samba'

CLIPPING

Um grupo de pesquisadores identificou um vírus gigante na Amazônia, batizado de Samba (SMBV). Trata-se do maior vírus isolado no país, possuindo um dos maiores genomas de sua família, os mimivírus. O achado foi publicado na revista científica "Virology Journal".

A descoberta do vírus, que habita as amebas, ocorreu a partir de uma expedição conduzida em 2011 que tinha o objetivo específico de buscar vírus gigantes. Ao todo, 35 amostras de água foram coletadas no Rio Negro ao longo de uma rota de 65 quilômetros a partir de Manaus.

Segundo o cientista Jônatas Abrahão, esse trabalho de prospecção procurou provar que os vírus gigantes, ou mimivírus, estão em todos os ambientes: "Onde há matéria orgânica, como lagoas, há amebas. E amebas podem conter vírus gigantes", diz o pesquisador, em nota divulgada pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

O primeiro vírus gigante já descoberto – o *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV) – foi observado pela primeira vez em 1992, mas foi um estudo publicado em 2003 que o caracterizou como um vírus gigante.

Esse tipo de vírus desperta interesse principalmente pela complexidade de seu genoma. No caso do vírus Samba, seu genoma apresenta 50 mil pares de bases a mais do que o do APMV, que possui no total 1,2 milhões de pares de bases.

Família dos mimivírus também é investigada por seu possível papel em infecções respiratórias em unidades de internação hospitalar. Eles podem estar envolvidos, por exemplo, nos casos de pneumonia com causa desconhecida.

**Vírus que infecta vírus** – Junto ao vírus Samba, os cientistas também identificaram um vírus menor, batizado de Rio Negro, que atua como um parasita do vírus gigante.

Segundo Abrahão, a hipótese é que o vírus Rio Negro seja um vírofago que tem o papel de controlar a expansão do vírus Samba. "Se houvesse vírus gigantes afetando amebas, livremente e de forma intensa, estas poderiam se extinguir localmente, e os vírus gigantes desapareceriam, por falta de hospedeiro", diz Abrahão.

O estudo foi desenvolvido por pesquisadores da UFMG e da Universidade Aix-Marseille, na França. (Fonte: G1)

**Notícias mais Lidas**

- [Estudo relaciona câncer de mama a produtos químicos de uso cotidiano](#) posted on maio 13, 2014
- [Cães são 4 vezes melhores em detectar câncer que exames](#) posted on maio 14, 2014
- [Múmias achadas nos EUA podem conter o vírus da varíola, um dos mais mortais](#) posted on maio 9, 2014
- [Chile cria purificador de água que pode ser esperança para América e África](#) posted on maio 15, 2014
- [EXCLUSIVO: O perigo de esquentar comida em recipientes plásticos, no forno de microondas, é real](#) posted on junho 23, 2008
- [Arábia Saudita anuncia mais 13 mortes por vírus Mers](#) posted on maio 12, 2014
- [Dilma anuncia regulamentação do Cadastro Ambiental Rural](#) posted on maio 5, 2014
- [Principais marcos históricos mundiais da educação ambiental](#) posted on setembro 11, 2007
- [Derretimento na Antártica Ocidental é irreversível, afirmam cientistas](#) posted on maio 14, 2014
- [Rede fluvial transportará resíduos sólidos no interior do Amazonas](#) posted on maio 10, 2014

**Pesquisar**

Buscar

10:12 16/05/2014

Região News | Cientistas brasileiros descobrem vírus gigante na Amazônia - Mozilla Firefox

Arquivo | Editar | Exibir | Histórico | Favoritos | Ferramentas | Ajuda

Jornal samba virus... | Região News | Cientistas descobr... | Jornal da Ciência | Pesquisadores da U... | Carlos Lima - Jorna... | 02.pdf (objeto appli... | Nacional - Estado d... | Saúde Plena | Belez...

www.regione.com.br/noticias/171520/Cientistas-brasileiros-descobrem-virus-gigante-na-Amazonia.html

Mais visitados | Primeiros passos

regione.com.br O Jornal Eletrônico da Região (67) 3272-6466 Buscar

Sexta-feira, 16 de Maio de 2014 | Expediente | Anunciar

Home | Artigos | Economia | Esporte | Mundo | Municípios | Política | Policial | Saúde | Eventos | Vídeos | Você Repórter

RESIDENCIAL PARQUE DOS IPÊS CASAS COM 60,97 m<sup>2</sup> ÁREA PRIVATIVA DE 142,8 m<sup>2</sup>

Notícia de: 14 de Maio de 2014 - 16:24

## Cientistas brasileiros descobrem vírus gigante na Amazônia

Em conjunto com outros cientistas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), ele publicou a descoberta na revista Virology Journal

CAPA imprimir IMPRIMIR Compartilhar

Pesquisadores brasileiros encontraram um vírus gigante nas águas ácidas do Rio Negro, em plena floresta amazônica - uma descoberta que, garantem, abre vastos caminhos no universo dos seres microscópicos. Além das proporções incomuns, o vírus, que recebeu o nome de "Samba", possui genoma complexo, com genes só encontrados em células e que nenhum vírus de outra espécie codifica. O Samba é o maior genoma de vírus já sequenciado no Brasil.

A descoberta do Samba Virus não surgiu por acaso. Interessado no tema, o professor Jônatas Abrahão, coordenador do grupo responsável pela pesquisa, organizou em 2011 uma expedição a Manaus, para fazer prospeção de vírus gigantes. Em conjunto com outros cientistas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), ele publicou a descoberta na revista Virology Journal.

"Estamos provando que os vírus gigantes existem em todos os ambientes - temos coletado amostras em lagoas urbanas e de solos em várias regiões do País", informou Jônatas. A equipe descobriu ainda outros vírus, como o Niemayer Virus, encontrado na Lagoa da Pampulha, em frente ao Museu de Artes; e o Cipó Virus, localizado na Serra do Cipó.

O vírus gigante sobrevive em um ecossistema especial, cuja dinâmica parece garantir uma existência equilibrada e harmônica com a ameoba que o abriga e com um tipo pequeno de vírus que o acompanha de perto. Esses vírus menores encontradas no entorno do Samba

Notícias + Lidas Fotos Vídeos

16 / 05 / 2014

08h56 Para Conselho, energia pré-paga beneficia consumidor e meio ambiente

08h49 PMA autua irmãos pecuaristas em R\$ 50 mil por erosão em propriedade

08h40 Leilão da Paróquia São Pedro será domingo em Jateí

08h32 Sebrae mantém prêmio para prefeitos, mesmo sem presença de ministro

Enquete

Você é contra ou a favor a gratuidade no transporte a universitários?

Favorável

Contrário

N.D.A

Votar

10:13 16/05/2014

Virus gigante é descoberto na Amazônia - Vida e Cidadania - Gazeta do Povo - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

jornal samba vir... Virus gigante ... x Região News | C... Cientistas desco... Jornal da Ciência J Pesquisadores d... Carlos Lima - Jor... 02.pdf (objeto a... Nacional - Estad... Saúde Plena | Bel... +

www.gazetadopovo.com.br/vidacidadania/conteudo.phtml?id=1468689

Mais visitados 11 Primeiros passos

Jornal de Londrina Assine agora | Clube Gazeta do Povo Entrar (login) Crie sua conta grátis

**GAZETA DO POVO** CAPA VIDA E CIDADANIA VIDA PÚBLICA ECONOMIA MUNDO ESPORTES CADERNO G OPINIÃO + Seções **GUIA** **classificados**

**Vida e Cidadania** Buscar na Gazeta **BUSCAR**

VERÃO EDUCAÇÃO SAÚDE COLUNISTAS ESPECIAIS SERVIÇOS E APLICATIVOS

Leia também » Cidades Inovadoras Vida na Universidade Ocupe o Passelo Despiche Meio Ambiente Guia de Matrículas Império das Cinzas Vida Prática

**PÓS-GRADUAÇÃO**  
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ *Campus Curitiba*

**ASSINE AGORA**

» CIÊNCIA

**Vírus gigante é descoberto na Amazônia**

Publicado em 14/05/2014

**CLASSIFICADOS ANUNCIE**

Comentários (0)

As águas do Rio Negro, nos arredores de Manaus, abrigam o maior vírus já descoberto no Brasil, um parasita microscópico tão "grande" que chega a superar algumas bactérias em tamanho e complexidade do DNA. Batizado de SMBV, ou simplesmente Samba, ele foi descrito por cientistas da UFMG, em parceria com colegas franceses, na revista Virology Journal. A descoberta pode ser importante tanto para a saúde humana, já que alguns vírus gigantes parecem ser capazes de causar pneumonia, quanto para entender a natureza dos vírus.

**Servopa** **Chegou o up! Tudo nele é up.**

**comparador.com** **BUSCAR**

Western Digital WD Caviar Blue...  
Extra.com...  
10 x R\$ 20,01

Consul CWK11A 11 Kg  
Wash-Mark  
10 x R\$ 99,80

Dazz 65130  
Ricardoela...  
8 x R\$ 39,88

DigiGrow DWES-1180 4GB  
KaBuHi!  
12 x R\$ 6,33

Perfume 212 Sexy Men Carolina...  
Sienna  
12 x R\$ 29,85

**FECHAR X**

Servopa Matriz: 413330 2001  
www.servopa.com.br

**TROCO NA TROCA** **ACEITAMOS SEU SEMINOVO NA TROCA**

**Servopa** **Bons negócios todos os dias.**

10:14 16/05/2014

Relacionadas: Cientistas brasileiros descobrem vírus gigante na Amazônia Samba Vírus teve genoma sequenciado por pesquisadores da UFMG - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

Jornal samba v... x Relacionad... x Vírus gigante... Região News... Cientistas des... Jornal da Ciên... Pesquisadores... Carlos Lima - J... 02.pdf (objeto... Nacional - Est... Saúde Plena | ...

www.passeiaki.com/noticias/cientistas-brasileiros-descobrem-virus-gigante-amazonia-samba-virus-teve-genoma-sequenciado-pesquisadores-ufmg/relacion... Google

Mais visitados Primeiros passos

Você está em PasseiAki - Turismo Brasil - Notícias Sexta-feira, 16 de Maio de 2014

# PasseiAki

Notícias atualizadas continuamente.

**Destaques**

- Acre
- Alagoas
- Amapá
- Amazonas
- Bahia
- Ceará
- Distrito Federal
- Espírito Santo
- Goiás
- Maranhão
- Mato Grosso
- Mato Grosso do Sul
- Minas Gerais
- Pará
- Paraná
- Paraná
- Paraná
- Pernambuco
- Piauí
- Rio de Janeiro
- Rio Grande do Norte
- Rio Grande do Sul
- Rondônia
- Roraima
- Santa Catarina
- São Paulo
- Sergipe
- Tocantins

/Relacionadas

**Miami: a partir de US\$ 599**

de decolar.com/Miami

Reserve sua Passagem Online, Com Melhor Preço Garantido. Aproveite!

[>](#)

**Cientistas brasileiros...**  
39 horas atrás

Pesquisadores brasileiros encontraram um vírus gigante nas águas ácidas do Rio Negro, em plena floresta amazônica – uma descoberta que, garantem, abre vastos caminhos no universo dos seres microscópicos. Além das proporções incomuns, o vírus, que recebeu o nome de "Samba", possui genoma complexo, com genes só encontrados em células e que nenhum vírus de outra espécie codifica. O Samba é

[Ver todas as Notícias relacionadas](#)

**Cientistas brasileiros descobrem vírus gigante na...**  
43 horas atrás

Imagem do Samba Vírus obtida no Centro de Microscopia da UFMG. Pesquisadores brasileiros encontraram um vírus gigante nas águas ácidas do Rio Negro, em plena floresta amazônica – uma descoberta que, garantem, abre vastos caminhos no universo dos seres microscópicos. Além das proporções incomuns, o vírus, que recebeu o...

[Ver todas as Notícias relacionadas](#)

**Vírus gigante é descoberto no Brasil**  
41 horas atrás

O maior vírus já encontrado no Brasil foi descoberto nas águas do Rio Negro, nas proximidades de Manaus. Trata-se de um parasita microscópico, porém muito maior que a maioria dos outros vírus, podendo superar até algumas bactérias em tamanho e complexidade de DNA (embora ambos sejam microscópicos, os vírus geralmente...

[Ver todas as Notícias relacionadas](#)

**Cientistas brasileiros descobrem vírus gigante na...**  
45 horas atrás

Amazônia (Foto: divulgação) Pesquisadores brasileiros encontraram um vírus gigante nas águas ácidas do Rio Negro, em plena floresta amazônica, uma descoberta que, garantem, abre vastos caminhos...



www.onofre.com.br

**Então você procura a Onofre em Casa.**

Sua farmácia rápida on-line.

[Clique aqui](#)

\*Confira região de entrega.

Iniciar

10:15 16/05/2014

Cientistas descobrem vírus gigante no Rio Negro | Rádios EBC - Mozilla Firefox

radios.ebc.com.br/jornal-da-amazonia-1a-edicao/edicao/2014-05/cientistas-descobrem-virus-gigante-no-rio-negro

Home / Rádio Nacional da Amazônia / Jornal da Amazônia - 1ª Edição

## Cientistas descobrem vírus gigante no Rio Negro

*Batizado de Samba, ele é 24 vezes maior que o vírus da poliomielite*

[Gosto](#) 0
 [Tweetar](#) 0
 [+1](#) 0
 URL FIXA: <http://radios.ebc.com.br/jornal-da-amazonia>

00:00 / 00:00

[Baixar áudio](#)

Na edição desta sexta-feira (15) do **Jornal da Amazônia 1ª edição**, saiba mais sobre o 4º Simpósio Nacional de Trabalho Infantil e Saúde, que acontece em Belém (PA). E ainda, 4 pessoas morreram entre janeiro e maio deste ano, vítimas de leptospirose, em Rio Branco. Confira também uma reportagem sobre um possível surto de hepatite A em escola de Benjamin Constant (AM). Trinta alunos da Escola Estadual Rosa Cruz, são suspeitas de contrair a doença.

O **Jornal da Amazônia 1ª edição** vai ao ar de segunda a sexta-feira, às 07h45, sempre trazendo a cotação do ouro e as manchetes dos principais jornais da Amazônia Legal. Esta é uma produção do **Radiojornalismo EBC**, veiculada em rede nas rádios **Nacional da Amazônia** e **Nacional do Alto Solimões**.

MEC AM - Rio de Janeiro
   
[Ouvir ao vivo](#)

Chico de Moraes, o maestro herói da MPB

Aida dos Santos e Hugo Hoyama são tema do Stadium

### Últimas edições

Pará é considerado totalmente livre de febre aftosa

Após 126 anos, Brasil ainda tem 200 mil em trabalho "escravo"

Amapá tem primeira Feira da Agricultura Familiar

<http://radios.ebc.com.br/jornal-da-amazonia-1a-edicao/edicao/2014-05/cientistas-descobrem-virus-gigante-no-rio-negro> áudio

Folhabv.com.br - Virus gigante é descoberto na Amazônia - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

www.folhabv.com.br/mobile/noticia.php?id=167460

Mais visitados Primeiros passos

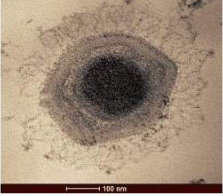
**FOLHA**  
MOBILE

[Acesse a versão Web](#)  
[Página Inicial](#) | [Folha Impressa](#)

### Virus gigante é descoberto na Amazônia

15/05/2014 09h23

Pesquisadores da UFMG (Universidade Federal de Minas Gerais) encontraram nas águas do Rio Negro, em plena floresta amazônica, o maior vírus já identificado no Brasil. O vírus gigante foi batizado de Samba Vírus.



Comparado ao vírus da poliomielite, a proporção seria a mesma entre um ser humano e o maior dinossauro já descrito no planeta", compara o professor Jônatas Abrahão. Não bastassem suas proporções incomuns - ele é maior que muitas bactérias - o Samba Vírus possui genoma complexo, com genes só encontrados em células e que nenhum vírus de outra espécie codifica. Além disso, ele sobrevive em um ecossistema especial com uma dinâmica que envolve a ameba que abriga vírus gigante e com um tipo pequeno de vírus que o acompanha de perto, chamado vírus Rio Negro.

**Mimivírus**  
Segundo o professor Jônatas Abrahão, o Samba é não apenas o maior vírus identificado no Brasil, mas também o maior genoma de um vírus já sequenciado no país. O primeiro vírus gigante foi encontrado em 1992 - seu nome é Acanthamoeba polyphaga mimivirus (APMV) - mas foi inicialmente confundido com uma bactéria, dúvida que só se desfez quando seu genoma foi sequenciado. Novas descobertas posteriores criaram a classe dos mimivírus. O genoma do Samba tem 50 mil pares de bases a mais que o do vírus protótipo APMV, que possui cerca de 1,2 milhão de pares de bases.

"Percentualmente a diferença parece pequena, mas pode corresponder a diversos novos genes", diz o professor. Essa diferença pode indicar, por exemplo, fatores relacionados ao ambiente em que ele foi isolado, como a intensa insolação e a acidez do rio, que é causada pelos resíduos de decomposição da floresta.

Se o Samba Vírus foi o primeiro a ter seu genoma codificado, a equipe já tem em laboratório vários outros vírus coletados em suas expedições. Entre eles estão o Niemayer Vírus, encontrado na Lagoa da Pampulha, em Belo Horizonte; e o Cipó Vírus, localizado na Serra do Cipó, em Minas Gerais.

"Onde há matéria orgânica, como lagoas, há amebas. E amebas podem conter vírus gigantes. A lógica é essa", diz o pesquisador, que também está investigando a presença desses microrganismos no Pantanal mato-grossense.

Em termos mundiais, o maior vírus conhecido, chamado Pandoravirus salinus, foi caracterizado por uma equipe francesa no ano passado.

**Dominios da vida**  
Até a descoberta dos mimivírus, os vírus eram seres que não se enquadravam na classificação proposta pela ciência para entender as linhagens primárias de vida. A biologia divide hoje as formas de vida celular em três grupos, denominados domínios da vida. Os três domínios são Eubacteria, que inclui as bactérias; Archaea, grupo que congrega os procariontes não enquadrados na classificação anterior; e Eukaria, que reúne todos os eucariontes, ou seres vivos com núcleo celular organizado.

Essa classificação não inclui os vírus, devido à ausência neles de algumas das características definidoras de vida. "A existência dos vírus gigantes fortaleceu a proposta de um quarto domínio", comenta Jônatas Abrahão.

Fonte: Diário da Saúde

10:20  
16/05/2014

Novos vírus gigantes brasileiros são identificados | Agência FAPESP :: Especiais - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

MSN Brasil - Outlook, Hotmail, Skype... x fapesp samba virus - Pesquisa Google x Novos vírus gigantes brasileiros são i... x FAPESP :: Eventos - Program - Simpó... x +

agencia.fapesp.br/19090

Mais visitados **Primeiros passos**

SAGE Agilid Agência Revistas Biblioteca Virtual Indicadores Oportunidades

**Agência FAPESP** Agência de notícias da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo Divulgando a cultura científica

Português | English | Español

Receba gratuitamente a Agência FAPESP

Especiais Notícias Entrevistas Revistas Científicas Agenda Mais lidas Quem somos Fale conosco Atualize o seu cadastro

**Novos vírus gigantes brasileiros são identificados**

16/05/2014

Por **Elton Alisson**

**Agência FAPESP** – Um tipo de vírus descoberto no início da década de 1990, e encontrado desde então em diversos locais, tem mudado a visão dos microbiologistas sobre esse agente infeccioso em razão de seu tamanho e complexidade.

É o chamado “vírus gigante”, um microrganismo maior do que algumas bactérias – enquanto a maioria dos vírus é cerca de 100 vezes menor – e cujo genoma pode ter mais de 1,2 milhão de pares de bases.

Alguns desses vírus gigantes, isolados no Brasil por pesquisadores do Grupo de Estudo e Prospecção de Vírus Gigantes (GEPVIG) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), foram apresentados em uma palestra no dia 29 de abril, no **Simpósio Internacional Biota Micro-organismos**, realizado na FAPESP.

“Temos feito estudos sobre a diversidade desse tipo de vírus no Brasil e sobre a evolução e a relação desses agentes com seus hospedeiros e com o sistema de defesa do organismo humano”, disse Jônatas Abrahão, professor da UFMG e um dos pesquisadores do GEPVIG, à **Agência FAPESP**.

Abrahão contou que um vírus gigante foi isolado em 1992 a partir de uma torre de resfriamento em um hospital em Bradford, na Inglaterra, mas, inicialmente, foi identificado erroneamente como uma bactéria e associado a amebas, que são hospedeiras e servem de reservatório para replicação de vírus e bactérias.

**SIGA A AGÊNCIA FAPESP**

Boletim Facebook Twitter RSS

**Conferência sobre bioenergia prorroga prazo para envio de trabalhos**

BBEST recebe até 25 de maio o resumo dos trabalhos para apresentação oral

**Instituto de Física da Unicamp seleciona professores**

Áreas de Física Biológica Experimental, Cosmologia Observacional e Informação Quântica Experimental estão com inscrições abertas

**FAPESP e grupo G3 assinam acordo**

Objetivo é promover a colaboração científica entre pesquisadores do Estado de São Paulo e das universidades de Montréal, Libre e de Genève

**Biociência e biosociabilidade são temas de ESPCA**

Evento na Unicamp é destinado a pós-doutorandos e a alunos de mestrado e doutorado do Brasil e do exterior. Inscrições vão até 20 de maio

**Evento discute a**

10:31 16/05/2014

<http://www.ebc.com.br/tecnologia/2014/05/novos-virus-gigantes-brasileiros-sao-identifi...>

Arquivo Editar Exibir Favoritos Ferramentas Ajuda

Google (2) Google Biology & Marine Biology... Resultados da pesquisa cu... Sites Sugeridos Galeria do Web Slice HotMail gratuito Customize Links MSN Brasil - Hotmail, Sky...

Portal EBC Agência Brasil Radioagência Nacional Rádios TV Brasil TV Brasil Internacional A+ A- Contraste



[Sobre a EBC](#) [Fale conosco](#)

[NOTÍCIAS](#) [CIDADANIA](#) [EDUCAÇÃO](#) [ESPORTES](#) [TECNOLOGIA](#) [CULTURA](#) [INFAN...](#)

**Tecnologia**

## Novos vírus gigantes brasileiros são identificados

[Compartilhar](#) [Tweet](#) 4 [+1](#) 711k URL FIXA:

Agência FAPESP 16.05.2014 - 12h30 | Atualizado em 16.05.2014 - 15h36

Agência FAPESP – Um tipo de vírus descoberto no início da década de 1990, e encontrado desde então em diversos locais, tem mudado a visão dos microbiologistas sobre esse agente infeccioso em razão de seu tamanho e complexidade.

É o chamado "vírus gigante", um microrganismo maior do que algumas bactérias – enquanto a maioria dos vírus é cerca de 100 vezes menor – e cujo genoma pode ter mais de 1,2 milhão de pares de bases.

Alguns desses vírus gigantes, isolados no Brasil por pesquisadores do Grupo de Estudo e Prospecção de Vírus Gigantes (GEPVIG) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), foram apresentados em uma palestra no dia 29 de abril, no Simpósio Internacional Biota Microorganismos, realizado na FAPESP.

"Temos feito estudos sobre a diversidade desse tipo de vírus no Brasil e sobre a evolução e a relação desses agentes com seus hospedeiros e com o sistema de defesa do organismo humano", disse Jônatas Abrahão, professor da UFMG e um dos pesquisadores do GEPVIG, à Agência FAPESP.

Abrahão contou que um vírus gigante foi isolado em 1992 a partir de uma torre de resfriamento em um hospital em Bradford, na Inglaterra, mas, inicialmente, foi identificado erroneamente como uma bactéria e associado a amebas, que são hospedeiras e servem de reservatório para replicação de vírus e bactérias.

[Leia outras notícias em Tecnologia](#)

(v) AGORA (ao vivo)



Escute ao vivo a programação das Rádios EBC

Conteúdo relacionado

- Homenagem** 15/05/2014  
 Google: Doodle faz homenagem à matemática Maria Gaetana Agnesi
- Interatividade** 14/05/2014  
 EBC concorre ao prêmio Frida 2014 com Projeto Brasil 4D de Interação TV Digital
- Economia** 13/05/2014  
 Brasil mostra avanços na área da inovação, indica BID
- Cooperação** 10/05/2014  
 Acordo entre BNDES e Impl vai estimular a propriedade intelectual no país
- Brasil** 10/05/2014  
 Ministro diz que emissoras públicas terão espaço

21:33 16/05/2014



Rio Negro, descobertas e curiosidades - YouTube - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

Entrar no cliente Zimbra para Web x Página de Saída x Rio Negro, descobertas e curiosida... x carelton courtyard galveston reviews... x Carelton Courtyard Apartments & Gu... x +

www.youtube.com/watch?v=IM3giG0hfOU&feature=youtu.be Rio Negro, descobertas e curiosidades - YouTube Google

Mais visitados m Primeiros passos

YouTube BR

Carregar Fazer login

**Rio Negro, descobertas e curiosidades**

Portal Amazônia - 244 vídeos 1 visualização

Inscrições 235

Gostei Sobre Compartilhar Adicionar a

Publicado em 17/05/2014

Programa sobre o Rio Negro, rio que banha Manaus e onde foi identificado o maior vírus do Brasil, o Samba. O Amazônia Interativa recebeu o especialista em química da água e pesquisador do Inpa, Sérgio Bringel. O programa também teve a participação, por telefone, do virologista que responsável pelo trabalho de identificação do vírus, Jônatas Abrahão.

Categoria Notícias e política  
Licença Licença padrão do YouTube

Mostrar menos

**Amazon Sat - Ao Vivo**  
por Portal Amazônia  
143 visualizações

**Produção de conteúdo independente para Internet**  
por Portal Amazônia  
60 visualizações

**Participação da sociedade na política na Amazônia**  
por Portal Amazônia  
Nenhuma visualização

**Artes na Amazônia: do teatro a dança**  
por Portal Amazônia  
Nenhuma visualização

**Amazônia indígena: história e novos paradigmas**  
por Portal Amazônia  
Nenhuma visualização

**Jornal da Amazônia**  
por Portal Amazônia  
Nenhuma visualização

**Igarapés de Manaus: realidade e possibilidades**  
por Portal Amazônia  
13 visualizações

**Estação Turismo|Museus|Museu Casa Eduardo Ribeiro**  
por Portal Amazônia  
Nenhuma visualização

**História do Empreendedorismo na Amazônia**  
por Portal Amazônia  
1 visualização

**Em Manaus, crianças aderem ao**

18:54 17/05/2014

https://www.youtube.com/watch?v=J6HC1fp6tM Virus gigante que pode causar pneumonia

Arquivo Editar Exibir Favoritos Ferramentas Ajuda

Google (2) Google Biology & Marine Biology... Resultados da pesquisa cu... Sites Sugeridos Galeria do Web Slice HotMail gratuito Customize Links MSN Brasil - Hotmail, Sky...

YouTube

Samba (1.213.607 bp)

**A**



**B**



Virus gigante que pode causar pneumonia

TV Cultura 15.923 vídeos 19 visualizações

94.721 Inscrever-se

Gostei Sobre Compartilhar Adicionar a

Publicado em 16/05/2014  
Essa é a descoberta de um grupo de cientistas no Rio Negro na Amazônia.

Veja mais notícias em: [cmais.com.br/jornalismo](http://cmais.com.br/jornalismo)

SEM COMENTÁRIOS AINDA

Compartilhe suas ideias

JC Debate sobre Desperdício de Alimentos - 15/05/2014  
por TV Cultura  
Nenhuma visualização

Jornal da Cultura Primeira Edição - 16/05/2014 - Bloco 1  
por TV Cultura  
14 visualizações

Emílio Orciolo Netto no Metrôpolis!  
por TV Cultura  
195 visualizações

Jornal da Cultura Primeira Edição - 15/05/2014 - Bloco 1  
por TV Cultura  
4 visualizações

Joel Pizzini no Metrôpolis  
por TV Cultura  
25 visualizações

Programa 658 com o professor e historiador Leandro Karnal -  
por TV Cultura  
6.990 visualizações

História do homem mais sortudo do mundo vira filme  
por TV Cultura  
196 visualizações

O que te marcou na exposição?  
por TV Cultura  
187 visualizações

Estudo aponta o uso constante da tecnologia como uma das causas da  
por TV Cultura  
6 visualizações

Destques de Notícias Internacionais - 15/05/2014  
por TV Cultura

19:04 17/05/2014

Virology Journal | Full text | Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon | Viral Bioinformatics Resource Center - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

MSN Brasil - Outlook, Hotma... Nova aba virology journal - Pesquisa G... Samba virus: a novel mimivi... Virology Journal | Full text | Sa... Virology and Bioinformatics f...

athena.bioc.uvic.ca/virology-journal-full-text-samba-virus-a-novel-mimivirus-from-a-giant-rain-forest-the-brazilian-amazon/ Google

Mais visitados Primeiros passos

**Viral Bioinformatics**  
RESOURCE CENTER

virology.ca

VIRUS WIKI FORUM BLOG HELP

Open membranes are the precursors for assembly of large DNA viruses.  
VBC | Victorian Bioinformatics Consortium

## Virology Journal | Full text | Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon

by CUPTON on MAY 14, 2014 · LEAVE A COMMENT

See on [Scoop.it](#) - Virology and Bioinformatics from Virology.ca

*The identification of novel giant viruses from the nucleocytoplasmic large DNA viruses group and their virophages has increased in the last decade and has helped to shed light on viral evolution. This study describe the discovery, isolation and characterization of Samba virus (SMBV), a novel giant virus belonging to the Mimivirus genus, which was isolated from the Negro River in the Brazilian Amazon. We also report the isolation of an SMBV-associated virophage named Rio Negro (RNV), which is the first Mimivirus virophage to be isolated in the Americas.*

See on [www.virologyj.com](http://www.virologyj.com)

No related posts.

RECENT NEWS

- 05.23.14 [Susceptibility of the Sf9 insect cell line to infection with adventitious viruses.](#)
- 05.22.14 [The Importance of Shaking Things Up](#)
- 05.21.14 [Virology Journal | Full text | Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon](#)
- 05.21.14 [Taming Measles Virus to Create an Effective Cancer Therapeutic – Mayo Clinic Proceedings](#)

TWITTER TIMELINE

Tweets [Follow](#)

athena.bioc.uvic.ca/help/

19:18  
23/05/2014

Biome | Viral giants - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

Entrar no cliente Zimbra para Web Rafael Campos - Outlook Web App Biome | Viral giants Wells Fargo Make fast decisions with ...

www.biomedcentral.com/biome/amazonian-giants-the-discovery-of-the-novel-giant-virus-samba/

Mais visitados Primeiros passos

## Amazonian giants: discovery of the novel giant mimivirus Samba

Posted by Biome on 27th May 2014 - 0 Comments

Tweet (9) Like 4 +1 0 Print submit

Over the last decade, discoveries of extremely large and complex viruses have challenged our concepts of what viruses are and how they evolved. These giant viruses are often comparable in dimension and genome size to small bacteria, even prompting some to postulate that they should be classed as a new kind of life form. Now, a novel giant virus named Samba (SMBV) has been found within amoebae of the Negro River in the Amazonian basin. Jônatas Santos Abrahão from the Federal University of Minas Gerais, Brazil, Bernard La Scola, from Aix-Marseille University, France, and colleagues, who discovered the virus, conducted a phylogenetic analysis of SMBV, the results of which are presented in their recent [study in \*Virology Journal\*](#).

Their analysis showed that SMBV is most closely affiliated with *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV), and falls within group A of the putative order Megavirales. SMBV virus has an average particle diameter of 574 nm and a genome containing 938 ORFs (that is, putative protein-coding genes). This contrasts with APMV, which is around 750 nm in diameter and has 911 predicted ORFs. Indeed, SMBV has one of the largest genomes of any group A Mimivirus known to date. They found that, although around 91 percent of SMBV's ORFs are shared with APMV, and are largely in the same genome locus, many of SMBV's ORFs are inverted when compared to APMV. SMBV also shares many ORFs that are known only from the *Mimiviridae* family, including those that putatively encode proteins with roles in protein translation or DNA repair.



Electron microscopy images of SMBV infected with RNV displaying morphological defects (left to right): defective capsid wrapped around a small particle, lemon-shaped particle, defective spiral capsid. Image source: Campos et al, *Virology Journal*, 2014, 11:95

Search Biome Search

Biome brings together a selection of new insights from across the entire spectrum of biology and medicine. [More about Biome](#)

Register for updates

Receive a monthly highlights email from Biome

email address Register

Tweets Follow

Biome @biomemagazine 18h  
New giant virus discovered in Amazon: #phylogenetic insights revealed in @VirologyJ study. Highlights here [bit.ly/1gxH7n](#) #mimivirus Expand

Biome @biomemagazine 19h  
@UAB\_info researchers get to the heart of internal #translation with #connexin 43 [bit.ly/1JVV61B](#) Expand

Biome @biomemagazine 23 May  
#BMI and big babies: @BMJ Open study discussed

Tweet to @biomemagazine

07:29 28/05/2014

Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

MSN Brasil - Outlook, H... Nova aba virology journal - Pesqu... Samba virus: a novel mi... Samba virus: a novel mi... Virology Journal | Full te... Virology and Bioinform...

healthmedicinet.com/news/samba-virus-a-novel-mimivirus-from-a-giant-rain-forest-the-brazilian-amazon/ Google

Mais visitados Primeiros passos

# Health Medicine Network

Your Source of Knowledge & Tips

Health A-Z Conditions Symptoms Codes-Procedures Drugs-Supplements Tools-Quizzes Video Gallery

HOME » TIPS »

## Samba virus: a novel mimivirus from a giant rain forest, the Brazilian Amazon

/ no comments

The identification of novel giant viruses from the nucleocytoplasmic large DNA viruses group and their virophages has increased in the last decade and has helped to shed light on viral evolution. This study describe the discovery, isolation and characterization of Samba virus (SMBV), a novel giant virus belonging to the Mimivirus genus, which was isolated from the Negro River in the Brazilian Amazon.

We also report the isolation of an SMBV-associated virophage named Rio Negro (RNV), which is the first Mimivirus virophage to be isolated in the Americas. Methods/results Based on a phylogenetic analysis, SMBV belongs to group A of the putative Megavirales order, possibly a new virus related to Acanthamoeba polyphaga mimivirus (APMV). SMBV is the largest virus isolated in Brazil, with an average particle diameter about 574 Å nm.

The SMBV genome contains 938 ORFs, of which nine are ORFans. The 1,213.6 Å kb SMBV genome is one of the largest genome of any group A Mimivirus described to date.

Electron microscopy showed RNV particle accumulation near SMBV and APMV factories resulting in the production of defective SMBV and APMV particles and decreasing the infectivity of these two viruses by several logs.

Conclusion:  
This discovery expands our knowledge of Mimiviridae evolution and ecology.

Author: Rafael K Campos Paulo V Boratto Felipe L Assis Eric RGR Aguiar Lorena CF Silva Jonas D Albarnaz Fabio P Dornas Gilliane S Trindade Paulo P Ferreira João T Marques Catherine Robert Didier Raoult Erna G Kroon Bernard La Scola Jânatas S Abrahão

Credits/Source

Published on: 2014-05-14

Tweet

RECENT NEWS

- Euro court rules German doctor can't be extradited to UK over pensioner's death
- Blame attack of the 'night munchies' on a faulty gene: Broken natural mechanism that synchronises sleeping and eating can lead to those Zam snacks
- For a longer life... eat lots of hot curries: Scientists say pain-blocking ability of chillis boosts lifespan
- Malaria vaccine could be ready in TWO YEARS
- How Tapping Helped One Woman Lose 30 Pounds
- 4 Strong Women Who Will Inspire You to Hit the Weight Room
- You Will Not Believe This Hair Salon Nightmare
- California's Drought Isn't Making Food Cost More. Here's Why
- Organic Kitty Litter Chief Suspect In Nuclear Waste Accident
- FDA approves Dalvance to treat skin infections
- comOR: a software for disease comorbidity risk assessment
- The role of simulation in developing communication and gestural skills in medical students
- Meeting physical activity guidelines associated with reduced risk for cardiovascular disease in black South African women: a 5.5-year follow-up study
- Investigating the effects of Pleistocene events on genetic divergence within Richardsonius balteatus, a widely distributed western North American minnow
- Uridine prevents tamoxifen-induced liver lipid droplet accumulation
- Heart disease: treatment using vegetables over drugs
- Abortion clinic guidance published
- New biomarker discovered for oxidative stress when exercising
- Haiti offers treatment as virus outbreak surges
- Brain changes may accompany type 1 diabetes diagnosis in kids
- E. coli detected: Portlanders told to boil water
- 8 Things You Never Knew Soap Could Do
- Is The Glass Half Full Or Half Empty? Answer: It Doesn't Matter (VIDEO)
- Edhart Tolle Explains How To Tell If You're Being Fully Present (VIDEO)
- The New Rules Of Healthy Cooking

19:19 23/05/2014