



# Febre amarela: genoma sequenciado

Análise de amostras obtidas a partir de macacos identificou alterações no genoma viral. Possíveis impactos para a saúde pública ainda precisam ser investigados

**P**esquisadores do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) realizaram os primeiros sequenciamentos completos do genoma de amostras do vírus da febre amarela referentes ao surto que atingiu o país em 2017. Foram investigadas duas amostras de macacos oriundos do Espírito Santo, mortos no final de fevereiro. A análise apontou que os microrganismos pertencem ao subtipo genético conhecido como linhagem Sul Americana 1E, que é predominante no país desde 2008. A

partir da sequência completa do genoma do vírus foi possível constatar a presença de variações em sequências genéticas que estão associadas a proteínas envolvidas na replicação viral. Não há registro anterior dessas mutações na literatura científica mundial. Os pesquisadores envolvidos na descoberta reforçam que os impactos para a saúde pública ainda precisam ser investigados e apontam para a necessidade de se avaliar mais amostras, relativas a locais diferentes e incluindo casos em humanos, macacos e mosquitos. Os resultados das análises foram divulgados na revista científica **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**.

O estudo partiu de uma constatação que vem ganhando cada vez mais espaço: a atual situação de febre amarela no país conta com lacunas de entendimento sobre sua dinâmica de dispersão. O surto é o mais severo das últimas décadas, e a doença tem se espalhado de forma rápida, com epizootias e casos humanos diagnosticados inclusive em locais considerados livres do agravo há quase 70 anos. Os pesquisadores do Laboratório de Biologia Molecular de Flavivírus e do Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários do IOC se dedicaram a buscar evidências que possam contribuir para esclarecer uma pergunta importante: existe algo de diferente no vírus da

febre amarela que está circulando atualmente? “Nesse momento, o compromisso de cada um dos pesquisadores deve ser de gerar conhecimento na sua área de especialidade e compartilhar as descobertas, de forma acelerada, para que possamos contribuir para preencher um mosaico de evidências que permita ajudar a explicar o cenário atual”, afirma a pesquisadora Myrna Bonaldo, chefe do Laboratório de Biologia Molecular de Flavivírus, que coordenou o estudo com o pesquisador Ricardo Lourenço, chefe do Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários.

## Origem das amostras sequenciadas

Em uma colaboração com a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS), o Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários vem atuando na coleta de amostras de primatas e mosquitos em locais estratégicos para o estudo do risco de transmissão e de re-emergência do ciclo urbano da febre amarela. Foi neste contexto que, no final de fevereiro de 2017, o grupo coletou sangue de dois macacos bugios (da espécie *Alouatta clamitans*) que adoceram em uma área de mata no Espírito Santo, confirmou a infecção pelo vírus e obteve o material genético para o sequenciamento do genoma.

“Os bugios são especialmente importantes nas investigações sobre a febre amarela por serem considerados ‘sentinelas’: como são muito vulneráveis ao vírus, estão entre os primeiros a morrer quando afetados pela doença. Além disso, estes animais amplificam eficientemente o vírus em seu organismo, favorecendo a infecção de mosquitos que habitam as matas e a disseminação da transmissão silvestre, na qual os seres humanos são infectados acidentalmente. Por isso, sua morte dispara um alerta para a possível presença do vírus em uma localidade”, descreve Ricardo Lourenço, que combina as experiências como ve-


terinário e entomologista. As coletas foram realizadas por Filipe Abreu, estudante de pós-graduação em Biologia Parasitária do IOC, que atua na equipe liderada por Lourenço. “Como há décadas não se registrava febre amarela na Mata Atlântica, pensei que não veria suas consequências na prática. Foi um enorme aprendizado ter a oportunidade de visualizar e trabalhar, em campo, com objeto de estudo da minha tese”, comenta o jovem biólogo.

## Análise do genoma do vírus

Após a extração do material genético (RNA) das amostras, foi realizado o processo de sequenciamento completo do genoma, atividade que contou com o apoio da Plataforma Tecnológica de Sequenciamento de DNA do IOC. As análises apontam para três principais evidências. Como primeira evidência, foi observada 100% de identidade entre as sequências genéticas dos vírus presentes nos animais – ou seja: os vírus tinham sequências genéticas idênticas.

A segunda evidência foi a constatação da presença de modificações no código genético dos vírus. Essas mutações foram identificadas quando a sequência genética completa obtida foi comparada à sequência genética completa de vírus relacionados a surtos ocorridos desde a década de 1980 no Brasil e na Venezuela, país onde a linhagem Sul Americana 1E também é predominante. Para a comparação, foram usados bancos de dados internacionais dedicados ao depósito de sequências genéticas.

A terceira evidência foi obtida na análise das proteínas virais, em um passo seguinte à constatação de mudanças na sequência genética. “De forma muito simplificada, o genoma é um código que tem o papel de orientar a produção de proteínas. Essas proteínas são a base da própria estrutura do vírus, formando seus elementos



constitutivos, como as paredes do vírus, por exemplo. Podemos comparar o genoma a um roteiro: o vírus tem um repertório de proteínas que são fabricadas a partir da informação do genoma. Algumas mudanças genéticas não impactam as proteínas do vírus. Por isso, é importante observar se as variações genéticas poderiam modificar o repertório das proteínas fabricadas”, descreve Myrna, que é virologista molecular e especialista em flavivírus.

Foi identificado que as mudanças no genoma estavam relacionadas a oito substituições de aminoácidos (as moléculas que compõem as proteínas). Sete dessas substituições ocorreram nas duas proteínas mais importantes para a replicação viral, conhecidas como NS3 e NS5. É o processo de replicação do vírus – multiplicação pela produção de cópias de si mesmo – que garante que o microrganismo provoque a doença. Além do impacto sobre as

proteínas relacionadas à replicação viral, também foi observada uma modificação na proteína C, que forma o capsídeo (envoltório que protege o material genético no interior do vírus).

## Necessidade de novos estudos

Myrna ressalta que as implicações biológicas e epidemiológicas do achado dependem de outros estudos e que mais dados são necessários para esclarecer o eventual papel das alterações genéticas detectadas no contexto do atual surto da doença. “Temos uma evidência que constitui um elemento novo, algo que não tinha sido observado antes. Porém, ainda não sabemos quais os impactos dessas mutações. Por esse motivo, consideramos fundamental imprimir velocidade à divulgação dos achados, para que os diversos grupos de pesquisa do país que estão debruçados sobre o tema da febre amarela possam considerar esse aspecto em suas análises. A ciência se faz de forma colaborativa, com resultados que vão se somando”, avalia.

Os pesquisadores enfatizam que o sequenciamento do genoma de mais patógenos circulantes no surto atual, tanto em casos humanos, como em mosquitos e em macacos infectados, é fundamental para complementar as evidências obtidas na pesquisa. “Este é um resultado inicial. Não podemos generalizar, pois ainda não sabemos se esse vírus é predominante no atual surto”, afirma Lourenço.

Sobre um possível impacto para a vacina disponível, os pesquisadores explicam que o imunizante adotado atualmente protege contra genótipos diferentes do vírus, incluindo o sul-americano e o africano. Além disso, as alterações detectadas no estudo não afetam as proteínas do envelope do vírus, que são centrais para o funcionamento da vacina. Eles ressaltam que as sequências genéticas completas dos vírus analisados no estudo já foram publicados no GenBank, de modo a estarem disponíveis para comparações que possam ser realizadas por outros cientistas do Brasil e do mundo.