

CARACTERIZAÇÃO DO VÍRUS URUCURI (BeAn 100049). CONTRIBUIÇÃO DO ESTUDO ULTRA-ESTRUTURAL DA INFECCÃO EXPERIMENTAL

Ronaldo de ARAUJO (1), Marialva T. F. ARAUJO (2), Francisco PINHEIRO (3), Dietrich PETERS (4) e Leonidas B. DIAS (5)

RESUMO

A inoculação experimental de camundongos albinos recém-nascidos por via intra-cerebral com o vírus Urucuri para estudos da patologia virótica permitiu a documentação, pela primeira vez, da partícula deste agente e seu locus de multiplicação. O vírion tem contorno circular ou levemente elíptico, medindo em média 105 nm, com cerne de eletrondensidade variável e envelope com projeções mui pequenas ou inaparentes. As partículas são formadas nas vesículas do complexo de Golgi e parecem ser eliminadas da célula por processo de exocitose, sem necessidade de ruptura da membrana plasmática ou necrose celular. Estas características permitem a classificação do vírus no grupo taxonômico dos Bunyaviridae. Não foram detectados os locais de acúmulo das partículas.

INTRODUÇÃO

O vírus Urucuri (BeAn 100049) foi isolado pela primeira vez no Instituto Evandro Chagas, Belém, Brasil, de um *Proechimys guyannensis* capturado a dezenove de Abril de 1966 na Floresta do Utinga nas adjacências de Belém, Pará. Os estudos de caracterização virológica efetuados por um dos Autores (PINHEIRO) ⁴ determinaram que antígenicamente o mesmo pertence ao grupo *Phlebotomus* e que se trata de um vírus novo, agora já aceito e registrado no International Catalogue of Arboviruses ³. O presente trabalho é o primeiro estudo morfológico da partícula viral e seu locus de formação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram inoculados 18 camundongos albinos recém-nascidos, por via intra-cerebral, com 0,02 ml de uma suspensão de tecido cerebral de ca-

mundongos previamente inoculados com o vírus Urucuri (BeAn 100049) do estoque do Instituto Evandro Chagas, Belém. Os animais foram sacrificados por decapitação 1, 2, 3 e 4 dias após a inoculação, utilizando-se três animais de cada vez. A seqüência foi encerrada no 4.º dia após a inoculação porque a partir desta coleta os animais morreram espontaneamente.

Para o estudo em microscopia eletrônica fragmentos de tecido nervoso de 1mm, retirados de uma secção de 1 mm de um corte coronal da porção média do cérebro dos camundongos foram fixados em aldeído glutárico a 2% em tampão fosfato com pH 7,2. Após lavagem no tampão foram pós-fixados em tetra-óxido de ósmio por uma hora e, após desidratação em alcoois de concentração crescente, incluídos em Epon. Os cortes ultra-finos foram contrastados com hidróxido de chumbo e acetato de uranila

Trabalho executado no Núcleo de Patologia Regional e Higiene da Universidade Federal do Pará e Instituto Evandro Chagas da Fundação Serviço Especial de Saúde Pública. Integrante de pesquisa conjunta com o Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo, Alemanha, segundo convênio CNPq-KFA. Projeto SIP/02-006 do Programa dos Trópicos Úmidos do CNPq.

- (1) Patologista, Chefe da Seção de Microscopia Eletrônica do NPRH
- (2) Patologista, Chefe do Laboratório de Microscopia Eletrônica do NPRH
- (3) Virologista, Chefe da Seção de Virologia do Instituto Evandro Chagas
- (4) Virologista, Chefe da Seção de Virologia do Instituto de Medicina Tropical, Hamburgo
- (5) Patologista, Chefe do Laboratório de Experimentação Animal do NPRH

e examinados e fotografados em microscópio Siemens Elmiskop 101. Foram utilizados fragmentos de tecido nervoso de dois animais de cada coleta, desprezando-se todos os animais que tiveram morte espontânea: estudaram-se, portanto, 8 animais. Para as medidas das partículas viróticas foram mensuradas todas as partículas encontradas, a partir das eletromicrofotografias.

RESULTADOS

No material dos animais sacrificados 1 e 2 dias após a inoculação foi possível detectar apenas modificações nucleares e citoplasmáticas de neurônios. No núcleo, a eletrondensidade diminui, com grumos de cromatina menores e menos condensados, criando um aspecto de palidez nuclear. No citoplasma, além de dilata-

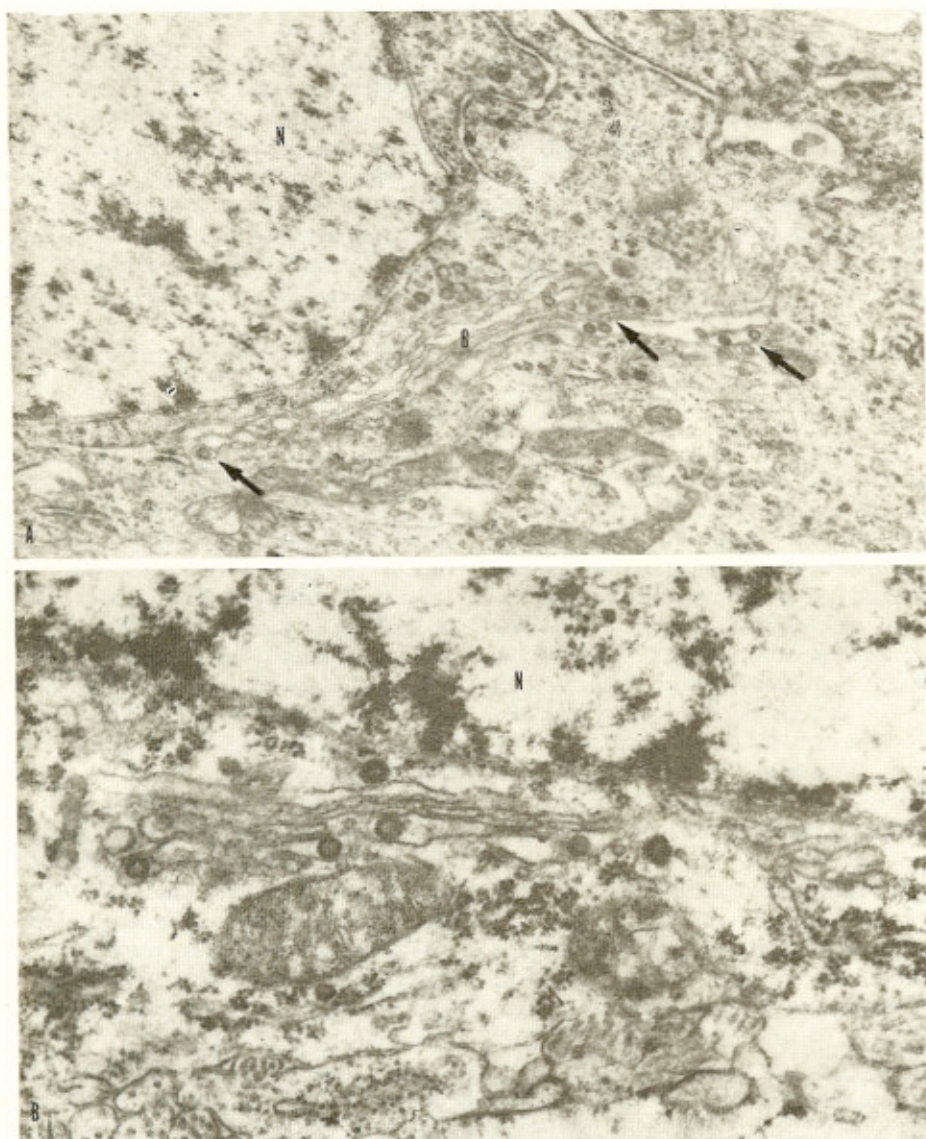


Fig. 1 — A) Neurônio de núcleo pálido (N) e Golgi hipertrofico (G) contendo partículas viróticas (setas). Aumento final: 25.600 X. B) Partículas do vírus Urucuri em Golgi de neurônio: notar o cerne de baixa eletrondensidade e o envelope com projeções pequenas e pouco nítidas. Aumento final: 51.200 X

ção discreta do retículo endoplasmático rugoso e moderada dilatação de mitocôndrias que apresentam matriz menos eletrondensa que o habitual, a alteração mais saliente é uma acentuada hipertrofia e hiperplasia do aparelho de Golgi, com alguns neurônios apresentando até cinco destas organelas em um mesmo corte (Fig. 1).

A partícula virótica foi encontrada no material dos animais sacrificados no 3.^o dia após

a inoculação (Figs. 1 e 2) em vesículas dilatadas do Golgi hiperplásico e em pequenas vesículas situadas a distâncias variáveis da membrana celular de neurônios. Há um máximo de 3-4 partículas viróticas em cada vesícula, sendo o mais freqüente o encontro de 1-2 partículas por vesícula. As vesículas isoladas do Golgi são encontradas até no limite da membrana celular.

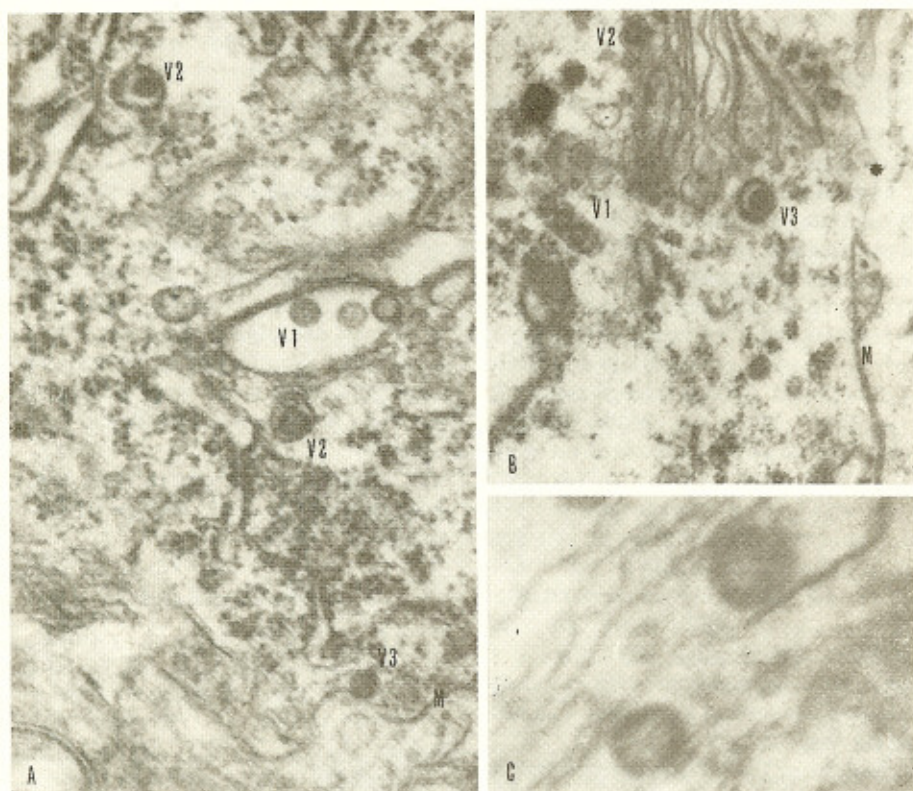


Fig. 2 — Partículas viróticas em processo de exocitose. A) Vesícula dilatada do Golgi contendo três partículas (V1) e vesículas pequenas contendo uma só partícula (V2), uma delas (V3) aparentemente fusionada à membrana celular (M). Aumento final: 51.200 X. B) Sequência idêntica, demonstrando apagamento (*) estrutural da membrana citoplasmática (M). Aumento final: 44.800 X. C) Virions em vesículas do Golgi. Aumento final: 160.000 X.

COMENTÁRIOS

Esta é a primeira documentação da partícula do vírus Urucuri que foi recentemente incluído no Catálogo Internacional de Arbovírus³.

As características morfológicas da partícula virótica e seu locus de formação permitem

incluir-lo dentro do grupo taxonômico ou "família" Bunyaviridae proposto por MURPHY & col.⁵ que fica assim acrescido deste agente.

O tamanho médio da partícula aqui descrita (105 nm) é praticamente o mesmo das partículas dos outros membros já conhecidos desta família. A variação individual deste tamanho oscilou entre um máximo de 122 nm e o

mínimo de 76 nm. A calibração da resolução do microscópio utilizado nas mensurações foi apenas a de rotina, não tendo sido utilizadas técnicas especiais como cristais ou réplicas para difração.

O cerne ("core") do vírion tem uma eletrondensidade variável, o que provavelmente é devido às pequenas variações dos parâmetros de fixação, corte, contraste e o padrão das reproduções fotográficas dos negativos, variantes que são impossíveis de fixar em um único nível. Só estudos posteriores poderão acrescentar alguns dados sobre o papel da maturação do vírion na variação acima citada.

O aspecto do cerne ("core") do vírion, tanto nas cem partículas examinadas com grande aumento (em torno de x 100.000) como naquelas outras analisadas em aumentos menores é predominantemente homogêneo e de baixa eletrondensidade, sendo entretanto numerosas aquelas de aspecto granuloso.

O envelope virótico é sempre bastante nítido, tendo entretanto a camada de projeções de superfície uma menor constância de nitidez. Só estudos posteriores (já que não pudemos documentar partículas fora da célula) poderão dizer se estas projeções são menores ou maiores nas partículas acumuladas no espaço extracelular. É de ressaltar entretanto que o vírion do Urucuri, por sua morfologia e por seu posicionamento dentro de vesículas é facilmente distinguível das estruturas celulares, particularmente das vesículas sinápticas com as quais guardam alguma semelhança. Merecem também menção, pela semelhança com o vírion, algumas vesículas pequenas do Golgi — as chamadas "coated vesicles".

Não encontramos partículas precursoras do vírion.

A distribuição das vesículas contendo as partículas do vírus desde o complexo de Golgi até as proximidades da membrana celular indicam que o mesmo pode ser eliminado da célula por exocitose simples, sem necessidade de haver necrose celular, fato aliás já comprovado para outros membros da "família" Bunyaviridae.

Finalmente merecem menção as alterações nucleares (marginação cromatínica e menor eletrondensidade) e as do complexo de Golgi (hiperplasia) que antecedem a maturação do vírus. Nossa experiência não só nas pesquisas com este, como com outros vírus (ARAUJO & col.² ARAUJO & BULLON¹) sugerem que elas

podem servir de guia para o pesquisador que procura detectar partículas viróticas em cortes ultra-finos de tecidos infectados.

SUMMARY

Characterization of Urucuri Virus (BeAn 100049), a new member of the Bunyaviridae group. Ultrastructural study of experimentally infected mouse brain

Thin section electron microscopic examination of white mice brain experimentally inoculated with Urucuri Virus (BeAn 100049) resulted in the documentation of morphology and morphogenesis of the virus particles. Most particles are round, some are lightly oval, with a mean diameter of approximately 100 nm (variation between 75 and 122 nm), with a core of variable electrondensity and a membrane-like envelope with a surface projection layer. Virus particles are formed within cisternae of the Golgi complex of neurons where they accumulate in small groups or individually. It is suggested that virus is released from infected neurons by vesicular membrane fusion and exocytosis.

These findings prove that the Urucuri virus belongs to the Bunyaviridae taxonomic group or "family".

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAUJO, R. & BULLON, A. — Elektronen mikroskopische Befunde in der Lunge nach Infektion mit dem Arbovirus BeAn 67949 bei der Maus *Virchows Arch Abt A. Path. Anat.* 355: 283-282, 1972.
2. ARAUJO, R.; DIAS, L. B.; ARAUJO, M. T. F.; PINHEIRO, F. & MOUTINHO, E. R. C. — Miocardite experimental em camundongos albinos por RUSES OF VERTEBRATES. *Amer. J. Trop. Med. São Paulo* 20: 102-111, 1978.
3. INTERNATIONAL CATALOGUE OF ARBOVIRUSES INCLUDING CERTAIN OTHERS ARBOVIRUSES OF VERTEBRATES. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* (Suppl.) 27: 436-438, 1978.
4. PINHEIRO, F. — Comunicação pessoal.
5. MURPHY, F. A.; HARRISON, A. K. & UHITFIELD, S. G. — Bunyaviridae: morphologic and morphogenetic similarities of Bunyamwera serologic supergroup viruses and several other arthropod-borne viruses. *Intervirology* 1: 297-316, 1973.