



DETECÇÃO DE TORQUE TENO VÍRUS EM AMOSTRAS RESPIRATÓRIAS DE PACIENTES ATENDIDOS NO CENTRO DE TISIOLOGIA DE CANOAS

Tanise Machado Telles¹
Márcia Susana Nunes Silva²

Resumo

Estudos recentes sobre o torque teno vírus (TTV), gênero *Anellovirus*, possibilitam construir a hipótese de que este vírus possua um fator patogênico causando infecções ou co-infecções no sistema respiratório. O objetivo deste trabalho é detectar a presença do vírus TTV em amostras de pacientes com infecção respiratória. Foram utilizadas 50 amostras de escarro provenientes de 30 pacientes com diagnóstico de tuberculose negativa e HIV negativo e 20 pacientes com tuberculose negativa e HIV positivo. O DNA viral foi extraído das amostras utilizando a técnica de ultrassom e amplificado utilizando a técnica de PCR. Foi detectada a presença do vírus TTV em 13 (26%) do total das 50 amostras. Com relação às 30 amostras TB negativas e HIV negativas, 6 (20%) apresentaram o vírus e em relação às 20 amostras com TB negativas e HIV positivas, 7 (35%) apresentaram o TTV. Considerando esses percentuais, a presença do vírus não foi significativa nas amostras utilizadas, o que pode resultar da hipótese do DNA do vírus ter pouca prevalência em materiais provenientes do sistema respiratório, além da possível limitação em relação à quantidade de amostras utilizadas.

Palavras-chave: TTV; PCR; sistema respiratório; tuberculose; HIV.

INTRODUÇÃO

O *Torque Teno Virus* (TTV) é um vírus de etiologia desconhecida, identificado por pesquisadores japoneses no ano de 1997, no sangue de um paciente com hepatite pós-transfusional (NISHIZAWA et al., 1997). O TTV foi relacionado à família *Anelloviridae* e gênero *Anellovirus*, nomeado TTV em 2009 (ICTV online, 2016). O vírus *Torque Teno* é pequeno com cerca de 30 a 50 nanômetros de diâmetro (JELCIC et al., 2004) não envelopado com DNA (ácido desoxirribonucleico) circular de fita simples e polaridade negativa. O seu comprimento varia entre 2,9 e 3,9 kb (OKAMOTO et al., 1998 e 2002).

A prevalência do TTV está fortemente associada à população com histórico de transfusão de sangue, o que explicaria a possibilidade do sangue ser o reservatório do vírus. Porém, análises qualitativas e quantitativas através do uso da técnica molecular Reação em

1 Aluno do curso de graduação de Biomedicina ULBRA – Bolsista PROBIC/FAPERGS – tanisetelles@hotmail.com

2 Pesquisador PPGGTA.MP / PPGBioSaúde – ULBRA, Canoas, RS.

Cadeia da Polimerase (PCR) revelaram a presença do TTV em fezes, água fresca, saliva, secreção de *swab* nasal, sêmen, fluídos amnióticos, trato respiratório e leite materno.

Contudo, ainda não foi possível estabelecer uma relação direta do TTV com o desenvolvimento de doenças, assim como não existem manifestações clínicas exclusivas deste vírus. Portanto, a realização de estudos torna-se necessária objetivando proporcionar uma maior compreensão sobre a biologia do vírus e, especialmente, das estratégias de disseminação deste agente.

Considerando o cenário descrito acima, o presente trabalho tem por objetivo detectar a presença do vírus TTV em pacientes com infecção respiratória possibilitando o diagnóstico desta infecção através da presença do vírus.

METODOLOGIA

O experimento relatado neste trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Luterana do Brasil de Canoas RS.

Foi analisado um total de 50 amostras de pacientes com diagnóstico de tuberculose negativo através dos exames de baciloscopia e cultura, aonde 30 dessas amostras eram de pacientes com resultado negativo para HIV e 20 com resultado positivo para HIV. O método para a extração do DNA utilizado foi por ultrassom e posteriormente, amostras foram submetidas a reação de PCR e identificadas por eletroforese em gel de agarose a 1,5% e visualizadas sob luz ultravioleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi detectada a presença do vírus TTV em 13 (26%) do total das 50 amostras. Com relação às 20 amostras TB negativas e HIV positivas, 7 (35%) apresentaram o vírus TTV, em relação às 30 amostras TB negativas e HIV negativas, 6 (20%) apresentaram o DNA do vírus TTV. Com intuito de verificar se a co-infecção entre TTV e HIV observada neste estudo foi significativa, utilizou-se o programa estatístico SPSS 20. As análises mostraram que esta co-infecção não foi significativa.

A presença do vírus TTV foi identificada em 26% das 50 amostras de escarro analisadas neste trabalho. Chikasue et al. (2012) realizaram uma pesquisa também relacionada ao TTV para determinar se o vírus estava presente ou não em amostras de ar expelido condensado utilizando o método *Nested PCR*. A coleta do ar foi realizada através de dispositivos específicos em sete pessoas (quatro homens e três mulheres). Foi detectada a

presença do DNA do TTV em 35% das amostras, demonstrando que o TTV é excretado com frequência moderada no ar expelido. Outra importante conclusão neste trabalho aponta que a respiração exalada é uma das possíveis rotas de transmissão do vírus *Torque Teno*.

Semelhante à investigação realizada neste trabalho e ao estudo de Chikasue et. al. (2012), aonde foram utilizadas amostras provenientes do sistema respiratório, Wootton et.al., (2011) desenvolveram uma pesquisa para definir vírus em casos de exacerbação aguda de fibrose pulmonar idiopática. A exacerbação é o aumento agudo nos sintomas respiratórios que excedam a variação diária normal e que levem à necessidade de mudanças nas medicações nos pacientes com doenças pulmonares obstrutivas crônicas (FIGUEIREDO et. al., 2010). Na investigação, eles utilizaram o método de PCR multiplex onde o material foi coletado através da lavagem bronco alveolar e soro de pacientes com exacerbação aguda de fibrose pulmonar idiopática. O resultado da investigação foi a não detecção de infecção viral na maioria dos casos de exacerbação aguda, porém o TTV esteve presente em uma minoria significativa de casos.

Complementar ao resultado da pesquisa de Wootton et al. (2011), Bando et al. (2015) concluíram que seria improvável o envolvimento do TTV com a exacerbação aguda de fibrose pulmonar idiopática, mas sim, a relação do vírus com o estado imunossupressor do hospedeiro, devido ao tratamento. O soro de nove pacientes tratados com esteroides e imunossupressores; sete sem esteroides ou imunossupressores com agravamento agudo da fibrose pulmonar idiopática incluindo cinco pacientes com exacerbação aguda, foi medido através de PCR em tempo real. O DNA também foi medido em oito casos de fibrose pulmonar idiopática estável e quatro casos de fibrose pulmonar idiopática de câncer de pulmão. Ao final do estudo, Bando et. al. (2015) concluíram que a presença do TTV possui relação ao estado imunocomprometido dos pacientes.

No presente trabalho foi identificada a presença do vírus TTV em 35% das 20 amostras de pacientes com HIV positivo, ou seja, pacientes imunocomprometidos. Li et. al. (2011) detectou a presença do TTV em 87,20% de amostras de soro de pacientes com HIV positivo. Esta porcentagem significativa em pacientes com HIV positivo também foi identificada na pesquisa de Alvarez et. al. (2012) que realizou um comparativo entre pacientes saudáveis (85%), pacientes com HIV positivos (90%) e pacientes com HIV e Hepatite C positivos (93,9%) através da utilização também de amostras de soro.

A presença significativa do vírus TTV nas amostras utilizadas por Li et. al. (2011) e Alvarez et. al. (2012), amostrar de soro, em contrapartida à presença bem menos significativa levantada no presente estudo e nos resultados obtidos por Chikasue et. al. (2012) e Wootton

et. al. (2011), possibilita estabelecermos a hipótese de que o DNA do vírus TTV prevalece em maior quantidade no sistema sanguíneo do que em relação aos materiais provenientes do sistema respiratório. Pode-se também considerar como uma limitação, a quantidade de amostras (50) utilizadas neste estudo para a investigação da presença significativa do vírus TTV.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se considerar a hipótese de que o DNA do vírus TTV prevalece em maior quantidade em amostras não provenientes do sistema respiratório. Existe a possibilidade de limitação em relação à quantidade de amostras utilizadas neste estudo.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, M. et. al. Association of torque teno virus (TTV) and torque teno mini virus (TTMV) with liver disease among patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** v. 32, p. 289-297, 2013.
- BANDO, M. et. al. Serum Torque Teno Virus DNA Titer in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Patients with Acute Respiratory Worsening. **International Medicine.** v. 54, p. 1015-1019, 2015
- BOSTAN, N.; AMEN, N.; BOKHARI, H. Current and Future Prospects of Torque Teno Virus. **Vaccines & Vaccination.** 2013.
- CHIKASUE, K. et. al., Detection of Torque Teno Virus DNA in Exhaled Breath by Polymerase Chain Reaction. **Acta Medica Okayama.** v. 66, n. 5, p. 387-397, 2012.
- FIGUEIREDO, A. B. et. al., **Exacerbação da doença pulmonar obstrutiva crônica.** FMRP-USP, Ribeirão Preto, 2010.
- IBM, SPSS Statistics 20. Disponível em: <http://www-01.ibm.com/>. Acessado em 16 de maio, 2016.
- ICTV Virus Taxonomy 2012. Disponível em: <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Acessado em 22 de maio, 2016.
- JELCIC, I.; HOTZ-WAGENBLATT, A.; HUNZIKER, A.; ZUR HAUSEN, H.; DE VILLIERS, E.M. Isolation of multiple TT virus genogroups from spleen biopsy tissue from a Hodgkin's disease patient: genome reorganization and diversity in the hypervariable region. **Journal of Virology**, v. 78, p. 7498–507, jun. 2004.
- LI, S. K. et. al. Detection and identification of plasma bacterial and viral elements in HIV / AIDS patients in comparison to healthy adults. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 11, 2012.
- MOREIRA, M; et al., Methodological variations in the isolation of genomic from Streptococcus bacteria. **Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia (BABT)** v.53, n.4, p. 845-849, 2010.
- NISHIZAWA, T.; OKAMOTO, H.; KONISHI, K; YOSHIZAWA, H.; MIYAKAWA, Y.; MAYUMI, M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 241, p. 92-07, 1997.
- OKAMOTO, H.; TAKAHASHI, M.; NISHIZAWA, T.; TAWARA, A.; FUKAI, K.; MURAMATSU, U.; NAITO, Y.; YOSHIKAWA, A. Genomic characterization of TT viruses

(TTVs) in pigs, cats and dogs and their relatedness with species-specific TTVs in primates and tupaias. **Journal of General Virology**, v. 83, p.1291-1297, nov. 2002.

OKAMOTO, H.; NISHIZAWA, T.; KATO, N.; UKITA, M.; IKEDA, H.; IIZUKA, H.; MIYAKAWA, Y.; MAYUMI, M. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with post-transfusion hepatitis of unknown etiology. **Hepatology Research**, v. 10, n.1, p. 1-16, fev. 1998.

OKAMOTO, H. History of discoveries and pathogenicity of TT viruses. **Current Topics in Microbiology and Immunology**. v. 331, p. 1-20, 2009.

WOOTTON, S. C. et. al., Viral Infection in Acute Exacerbation of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. **ATS Journal**, vol. 183, p. 1698-1702, 2011.