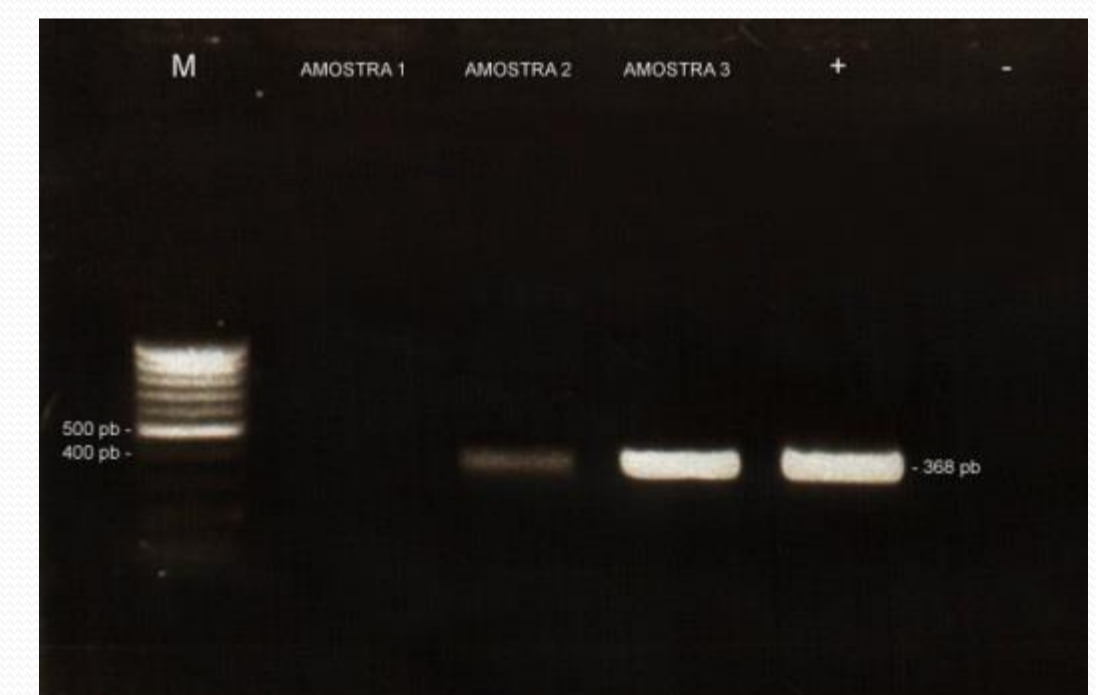
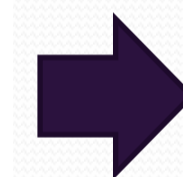
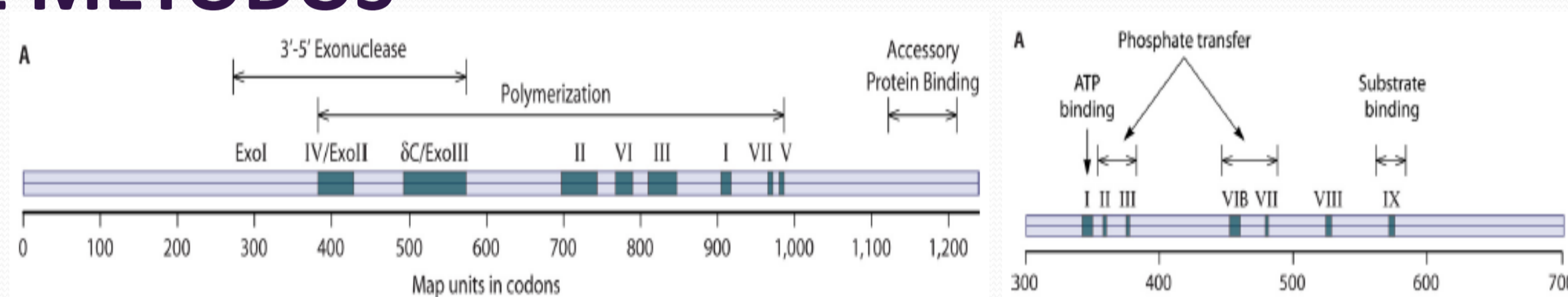


IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÕES RELACIONADAS À RESISTÊNCIA A FÁRMACOS NOS GENES UL54 E UL97 DE CITOMEGALOVÍRUS HUMANO DETECTADO EM URINA DE PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS

INTRODUÇÃO

O citomegalovírus humano (HCMV) é um importante patógeno associado à alta morbidade e mortalidade em pacientes transplantados de órgãos sólidos, como transplantados renais. Três antivirais de terapia sistêmica foram aprovados para o tratamento de infecções por HCMV: Ganciclovir (GCV), Cidofovir (CDV) e Foscarnet (FOS). Tanto variações na eficácia dos fármacos disponíveis para a terapia quanto fatores do hospedeiro podem levar ao surgimento de mutações no genoma do HCMV, podendo conferir resistência aos fármacos. As proteínas DNA polimerase e quinase, codificadas respectivamente pelos genes UL54 e UL97, são importantes sítios de surgimento dessas mutações. Neste estudo, duas regiões do gene da DNA polimerase detectados na urina de pacientes transplantados renais foram analisadas a fim de identificar mutações associadas à resistência aos fármacos GCV, CDV e FOS.

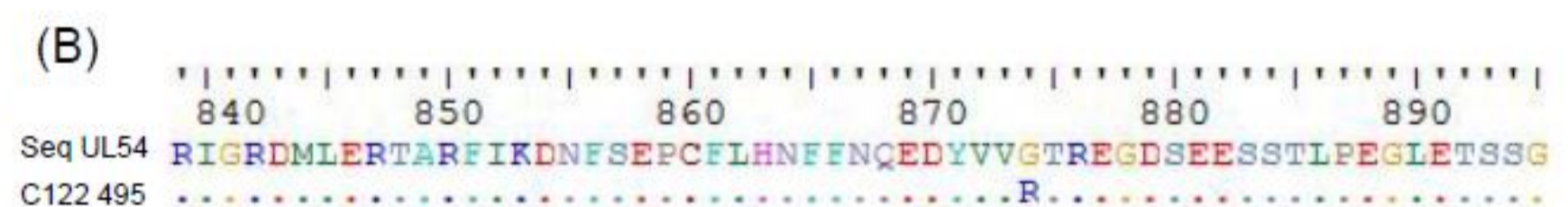
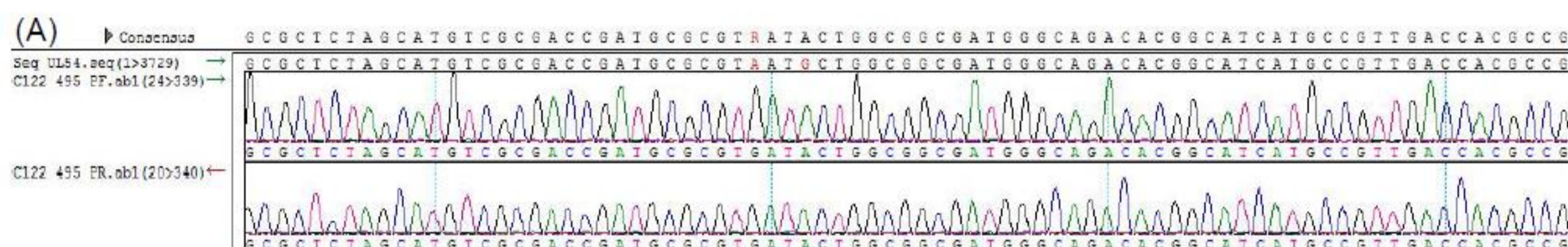
MATERIAIS E MÉTODOS



86 amostras de DNA extraídas de urina de pacientes transplantados renais

Regiões amplificadas por Nested-PCR. Na esquerda, o gene UL54 e, na direita, o gene UL97. O mapa do gene é dado em codons. (Lurain & Chou, 2010).

Eletroforese em gel de agarose das amostras testadas. (M: marcador de 100pb. Amostras 2 e 3: positivas para UL54. Amostra 1: negativa. +: controle positivo. -: controle negativo)



Sequenciamento pelo método de Sanger e análise utilizando ferramentas de bioinformática. (A) Análise da qualidade de sequenciamento com o software SeqMan Pro™ (Lasergene®). (B) Alinhamento das sequências com uma referência (Seq UL54) e avaliação da presença de mutações e/ou polimorfismos utilizando o software BioEdit.

RESULTADOS E PERSPECTIVAS

Detectamos o genoma viral em 48 (55,8%) das 86 amostras testadas para UL54. Nesse gene, encontramos duas mutações, sem associação à resistência descrita na literatura: G874R, que não afeta a suscetibilidade do vírus aos fármacos; e A449V, mutação de fenótipo desconhecido, onde ensaios de determinação fenotípica podem caracterizar essa mutação. Após a realização da Nested-PCR para o gene UL97 e o sequenciamento dos amplicons, mutações de resistência ao GCV poderão vir a ser identificadas. O monitoramento das mutações de resistência a fármacos é importante para guiar o tratamento, por melhorar o prognóstico da infecção em pacientes transplantados.

REFERÊNCIAS

- SLONGO, J. Pesquisa de mutações associadas a resistência a antivirais no gene UL54 de citomegalovírus humano detectados em amostras de urina de pacientes transplantados renais. ICBS, UFRGS. 2013
- RAZONABLE, R.R. et al. Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. American Journal of Transplantation, v. 13, p. 93-106, 2013.
- BIRON, K.K. Antiviral drugs of cytomegalovirus diseases. Antiviral Research, v. 71, p. 154-163, 2006.
- LURAIN, N.S. & CHOU, S. Antiviral Drug Resistance of Human Cytomegalovirus. Clinical Microbiology Reviews, v. 23(4), p. 689-712, 2010