

Perfil genotípico de resistência do vírus *Influenza A (H1N1)* pandêmico aos inibidores da neuraminidase em pacientes procedentes da mesorregião de Belém, Estado do Pará, Brasil, no período de maio de 2009 a maio de 2012*

Genotypic resistance profile of the pandemic *Influenza A virus (H1N1)* to neuraminidase inhibitors in patients coming from the middle region of Belém, Pará State, Brazil, from May 2009 to May 2012

Perfil genotípico de resistencia del virus pandémico *Influenza A (H1N1)* a los inhibidores de la neuraminidasa en pacientes procedentes de la mesorregión de Belém, Estado de Pará, Brasil, en el período de mayo de 2009 a mayo de 2012

Luana Soares Barbagelata
Seção de Virologia, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua,
Pará, Brasil

Rita Catarina Medeiros Sousa
Seção de Virologia, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua,
Pará, Brasil

O vírus *Influenza* é o responsável pela gripe, uma doença que ocasiona milhões de mortes e hospitalizações todos os anos. Nas infecções severas, especialmente em pessoas com risco para complicações, os antivirais tornam-se os principais meios para o manejo clínico, merecendo especial destaque os inibidores da neuraminidase (INAs). Na pandemia de 2009, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomendou o uso do oseltamivir (Tamiflu®) para o tratamento dos doentes. Porém, devido à evolução genética viral, surgiram cepas com mutações no gene codificador da neuraminidase (NA) responsáveis por substituições aminoacídicas que levam à resistência aos fármacos INAs. Assim, a OMS passou a recomendar a vigilância de resistência genotípica para os vírus *Influenza*. Este trabalho teve como objetivos verificar a ocorrência de mutações no gene codificador da NA dos vírus *Influenza A (H1N1)* pandêmico que possam estar relacionadas à resistência aos INAs em cepas circulantes na mesorregião metropolitana de Belém, Estado do Pará, Brasil, no período de maio de 2009 a maio de 2012 e analisar, por meio da modelagem de proteínas, as substituições aminoacídicas da NA que possam influenciar na conformação proteica. Durante o período de estudo, foram recebidas, no Laboratório de Vírus Respiratórios do Instituto Evandro Chagas, 2.619 amostras clínicas de pacientes que apresentavam sinais e sintomas de infecção respiratória aguda com até cinco dias de evolução. Para a detecção do genoma viral, foi feita a extração do RNA viral seguida de RT-PCR em tempo real utilizando marcadores específicos para *Influenza A H1N1pdm*, resultando em 744 (28,4%) positivas. Parte das amostras positivas foram inoculadas em células MDCK. Para as amostras isoladas em cultura de células, foi feita uma nova extração do RNA viral seguida de uma RT-PCR e semi-Nested (PCR), utilizando iniciadores específicos para o gene NA, e posterior análise em sequenciador automático ABI Prism 3130xl (Applied Biosystems). A modelagem molecular da NA foi realizada pelos softwares Swiss-model, Modeller 9.10, Procheck, Verify3D e Pymol. A análise parcial das sequências da NA nas amostras sequenciadas mostrou que não houve a circulação de cepas de vírus H1N1pdm com a mutação H275Y, a principal envolvida na resistência ao oseltamivir. Porém, em duas amostras foi identificada a substituição D199N, já relatada em vários estudos mostrando uma possível associação com o aumento da resistência ao medicamento. As amostras de 2012 apresentaram duas substituições (V241I e N369K)

* Resumo de dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais da Universidade Federal do Pará, sob orientação da prof.ª dr.ª Rita Catarina Medeiros Sousa, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais, em 26 de outubro de 2012. Belém, Pará, Brasil.

Correspondência / Correspondence / Correspondencia:

Luana Soares Barbagelata
Seção de Virologia, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS
Rodovia BR 316, km 7, s/nº. Bairro: Levilândia
CEP: 67030-000 Ananindeua-Pará-Brasil
Tel.: +55 (91) 3214-2005 / (91) 3214-2013

que estão relacionadas com um possível papel na compensação dos efeitos negativos causados pela mutação H275Y. A modelagem molecular mostrou que na mutação D199N houve uma alteração na estrutura da proteína NA próxima ao sítio de ligação ao antiviral. A análise filogenética revelou que as amostras de 2012 formaram um *cluster* isolado, demonstrando uma variação muito mais temporal do que geográfica. Este representa o primeiro estudo de resistência dos vírus Influenza H1N1pdm na mesorregião metropolitana de Belém, representando um importante instrumento para que os profissionais de saúde adotem estratégias mais eficazes no manejo da doença e no desenvolvimento de novos fármacos anti-influenza.

Palavras-chave: Influenza; Neuraminidase; Resistência; Antivirais.

Apoio Financeiro: Fundação Amazônia Paraense de Amparo à Pesquisa.

Recebido em / Received / Recibido en: 24/2/2014
Aceito em / Accepted / Aceito en: 14/7/2014