

Caracterização da neuraminidase do vírus da gripe A H1N1pdm09 entre 2009-2012



SILVIA DE CARLI¹, NILO IKUTA²

1 - Acadêmica de Medicina Veterinária - ULBRA

2 - Docente ULBRA

UFRGS **XXV SIC**
PROPEAQ Salão Iniciação Científica

CB - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO

A gripe é uma doença infecciosa aguda que ocorre predominantemente nos meses mais frios do ano, infectando aves e mamíferos. O agente etiológico é o vírus da Influenza pertencente à família *Orthomyxoviridae*. Um vírus influenza (A H1N1pdm09) disseminou desde março de 2009, levando a ocorrência da mais nova pandemia de gripe conhecida, onde aproximadamente 30.000 casos foram confirmados no Brasil. No Rio Grande do Sul 3.585 casos foram positivos em 2009 (298 óbitos), nenhum registro em 2010, 108 casos em 2011 (13 óbitos) e 517 casos em 2012 (66 óbitos).

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi caracterizar o grau de similaridade entre os vírus que circularam nos anos de 2009 a 2012, bem como verificar a ocorrência de casos resistentes aos inibidores de neuraminidase (NAIs) no estado do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de RNAs positivos para influenza A H1N1 pdm09 a partir do LACEN – RS.

Amplificação e sequenciamento dos amplicons para análise do gene da neuraminidase (NA).

Análise do material genético através de ferramentas moleculares.

RESULTADOS

Um banco de dados foi previamente confeccionado a partir do GenBank para possibilitar a comparação dos resultados locais com as sequências do vírus influenza A H1N1pdm09 circulantes em diferentes regiões do mundo, durante o período da pandemia. Verificou-se que o grau de identidade era muito elevado entre todas as sequências avaliadas do GenBank (>99%), e que somente 2 alterações principais de aminoácidos foram encontradas nas posições 106 (I/V) e 248 (D/N) da neuraminidase (Tabela 1). Desta forma, estes vírus foram agrupados como Cluster 2009-I, Cluster 2009-II, Cluster 2009-III. Nos anos posteriores um total de 362 amostras do Rio Grande do Sul foram sequenciadas, sendo coletadas em 2009 (140 amostras), 2011 (105) e 2012 (117), e formaram os Cluster 2011-I, 2011-II e 2011-III e em 2012 o Cluster 2012-I, outros grupos foram formados porém circularam em baixa incidência (Figura 1).

REFERÊNCIA

WHO June 2011: Update on oseltamivir resistance in influenza A (H1N1) 2009 viruses. 15 June 2011.

Hurt AC, Deng YM, Ernest J, Caldwell N, Leang L, Iannello P, Komadina N, Shaw R, Smith D, Dwyer DE, Tramontana AR, Lin RT, Freeman K, Kelso A, Barr IG. Oseltamivir-resistant influenza viruses circulating during the first year of the influenza A(H1N1) 2009 pandemic in the Asia-Pacific region, March 2009 to March 2010. Euro Surveill. 2011 Jan 20;16(3). pii: 19770.

Tabela 1: Sequências do GenBank do ano de 2009 e do Rio Grande do Sul dos anos de 2009 a 2012, com a porcentagem referente a cada Cluster e as posições que formaram a divisão dos padrões filogenéticos.

ANO	N	% GRUPO	ID	81	95	106	157	188	193	241	248
GB 2009	166	55,4	Clado 2009 - I	V	S	I	T	I	I	V	D
		41,0	Clado 2009 - II	V	S	V	T	I	I	V	N
		3,6	Clado 2009 - III	V	S	I	T	I	I	V	N
2009	140	100,0	Clado 2009 - I	V	S	I	T	I	I	V	D
		5,7	Clado 2009 - I	V	S	I	T	I	I	V	D
		1,0	Clado 2009 - III	V	S	I	T	I	I	V	N
2011	105	40,0	Clado 2011-I	V	S	I	T	I	I	I	D
		36,2	Clado 2011-II	V	N	I	T	I	V	I	D
		14,3	Clado 2011-III	A	S	I	A	I	I	I	D
		1,0	2011 1157	A	S	I	T	I	I	I	D
		1,0	2011 186	V	S	I	T	I	I	I	N
		1,0	2011 541	V	N	V	T	I	V	I	D
		81,2	Clado 2011-I	V	S	I	T	I	I	I	D
2012	117	0,9	2011 1157	A	S	I	T	I	I	I	D
		17,9	Clado 2012-I	V	S	I	T	T	I	I	D

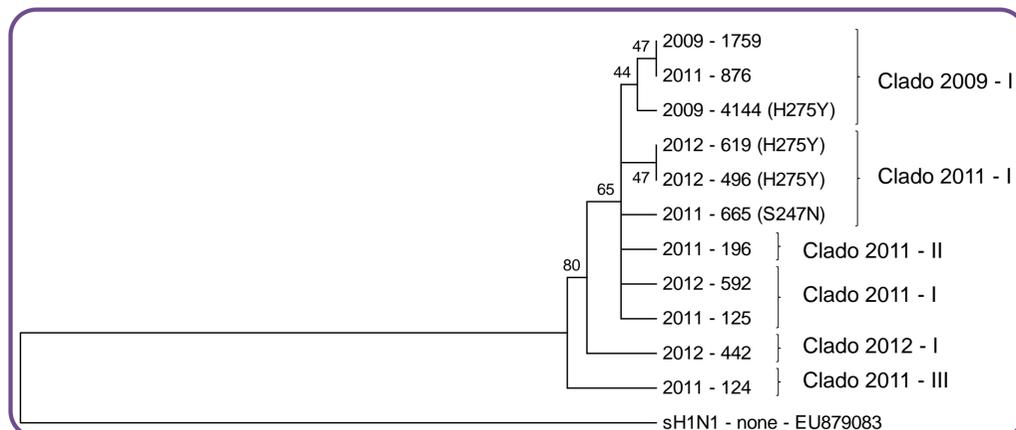


Figura 1: Análise filogenética de sequências representativas da formação dos clados.

Apesar destas alterações nos aminoácidos, a comparação entre todas as sequências demonstrou alta identidade (>95%) nesta proteína. Através destas mesmas sequências foram analisadas as mutações que conferem resistência aos NAIs (Oseltamivir e Zanamivir), que são as drogas recomendadas no tratamento da Influenza A. Não foram detectados mutantes com resistência ao zanamivir, porém foram identificados 4 mutantes que conferem resistência ao oseltamivir. Três destes casos com a mutação H275Y (1 caso 2009 e 2 em 2012) e 1 caso S247N (2011).

CONCLUSÕES

Podemos concluir que mutações estão sendo detectadas no vírus da influenza A H1N1pdm09 que circularam nos anos de 2009 a 2012, apesar de serem filogeneticamente muito semelhantes entre si (média 98% de identidade). Além disto descrevemos a ocorrência dos primeiros casos resistentes ao oseltamivir em nosso país, em baixa incidência (1,1%). Isso demonstra que não houve uma importante disseminação de vírus resistentes até o momento e indica que o tratamento com NAIs continua sendo efetivo no controle desta enfermidade.



MODALIDADE DE BOLSA

PROBIC - FAPERGS