

Pesquisa de sítios de restrição enzimática em segmento da *ORF K1* do genoma de herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8) em isolados clínicos de São Paulo: relação com subtipos virais e implantação da técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses) para determinar subtipos virais

Moreira, A. A. - **Pesquisa de sítios de restrição enzimática em segmento da *ORF K1* do genoma de herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8) em isolados clínicos de São Paulo: relação com subtipos virais e implantação da técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses) para determinar subtipos virais.** São Paulo; 2003. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo]. Orientador: Profa. Dra. Adele Caterino de Araujo.

A epidemia da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) fez aumentar a incidência de sarcoma de Kaposi (SK) em todos os países e o SK passou a ser considerado doença definidora de AIDS. Desde a descoberta de seu agente etiológico, o herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8), vários estudos vêm sendo realizados com o objetivo de caracterizar subtipos virais presentes em todas as formas de SK: clássica, endêmica, iatrogênica e epidêmica. Os sistemas rotineiramente usados na subtipagem do HHV-8 têm usado o seqüenciamento de um gene que contém regiões hipervariáveis e que codifica uma glicoproteína de membrana viral (*ORF K1*). O presente trabalho apresenta um sistema de subtipagem alternativo que se baseia na presença de sítios de restrição enzimática em um pequeno segmento do gene *ORF K1*, região hipervariável 1 (VR1) e que permite discriminar subtipos virais. A análise de 68 seqüências; 50 que pertenciam a 36 pacientes com sarcoma de Kaposi infectados e não infectados pelo HIV-1 de São Paulo e 18 a protótipos dos subtipos A a E, mostraram mapas de restrição enzimática característicos dos principais subtipos virais descritos até o momento. Tomando como base apenas as enzimas disponíveis comercialmente, foram selecionadas cinco que se mostraram úteis para a subtipagem de HHV-8: *Taq I*, *Nsi I*, *Hinf*

I, *Hae III* e *Mse I*. Os resultados obtidos com a técnica de PCR-RFLP (reação em cadeia de polimerase associada à análise do polimorfismo de fragmentos de restrição enzimática) mostraram que de 48 espécimes brasileiros previamente classificados como sendo dos subtipos A, B e C por seqüenciamento gênico, todos foram corretamente subtipados pela técnica de PCR-RFLP. Três amostras (duas do subtipo A e uma do B) apresentaram mais um sítio de restrição enzimática além dos descritos como sendo os predominantes. Mais recentemente, outras 27 amostras de 18 casos de infecção por HHV-8 foram subtipadas pela PCR-RFLP. Houve detecção de oito isolados do subtipo A, sendo seis de variante predominante, um de variante minoritária conhecida e um de nova variante viral. Dois casos de infecção por HHV-8 do subtipo B e sete do subtipo C também foram identificados. Finalmente, um provável caso de infecção pelo subtipo E foi encontrado em paciente com SK-AIDS disseminado, resistente à quimioterapia. Na avaliação global, houve maior número de casos de infecção por HHV-8 dos subtipos A e C. Concluindo, devido à alta sensibilidade e especificidade, baixo custo, rapidez e facilidade de execução, a técnica de PCR-RFLP pode ser usada em larga escala para estudos de epidemiologia molecular, principalmente em países em desenvolvimento.

Dissertação disponível na Biblioteca
Digital de Teses e Dissertações da USP
Site: www.teses.usp.br
e-mail: caterino@ial.sp.gov.br