

ANÁLISE FILODINÂMICA DO VÍRUS DO HEPATITE DELTA ISOLADO NA AMAZÔNIA

LIMA, Felipe Souza Nogueira^{1,3}; **BOTELHO-SOUZA, Luan Felipe**^{2,3}; **SANTOS, Alcione de Oliveira dos**^{1,3}; **SALCEDO, Juan Miguel Villalobos**^{1,2}; **VIEIRA, Deusilene Souza**^{1,3}

¹ Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ

² Universidade Federal de Rondônia- UNIR

³ Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia - CEPEM

O vírus da hepatite delta (HDV) possui afinidade hepatotrópica e é responsável por formas graves de infecções em seres humanos, com quadros de hepatite fulminante e potencial capacidade de agravamento de lesão hepática e desenvolvimento de carcinoma hepatocelular, quadro que leva o paciente a óbito em aproximadamente 95% dos casos. Satélite ao vírus da hepatite B, ele é constituído por genoma de 1,7 Kb, de ssRNA (-) circular e, devido a esta peculiaridade, possui uma ampla variabilidade genética e evolutiva que permite organizá-lo em 8 genótipos com diferenças extragenotípicas que podem chegar até 40%. O estudo da dinâmica do HDV permite observar a evolução, mudanças nas gerações e fixação das mutações que apareceram no decorrer do tempo que implicaram no comportamento do vírus nas últimas décadas. Os objetivos do estudo são: determinar a dinâmica das cepas isoladas na região da Amazônia ocidental, caracterizar genotipicamente os isolados, analisar as mutações e elucidar a linhagem evolutiva destas na base experimental de padronização de *reação em cadeia da polimerase* para isolamento do genoma completo do HDV. Para a padronização, foram desenhados e utilizados primers/oligonucleotídeos oriundos da literatura em diferentes pares e combinações de temperatura e concentração para alcançar o isolamento de todo genoma viral. Para determinação da linhagem evolutiva, caracterização genotípica e determinação de mutações existentes o software MEGA7 foi utilizado, sob o método *Maximun Likelihood* para análise filogenética e algoritmos *Clustal W* e *MUSCLE* para alinhamento de sequências nucleotídicas e peptídicas, respectivamente. Para elucidação da dinâmica viral, *softwares* pertencentes ao complexo BEAST combinando estimativa bayesiana para obtenção de resultados. Quanto a padronização, o isolamento contou com 2 fragmentos distintos que se complementam na formação do genoma, sob utilização de 5 primers na concentração de 0.5 mM e temperatura de 59°C de anelamento. Na caracterização genotípica, foi observado maior prevalência da variante HDV-3 (33/95%) sobre a HDV-1 (2/5%). 6 mutações foram encontradas nas amostras pertencentes ao HDV-3 (R134K, S169N, I185L, F193Y, F198L e Y205H) e 8 em amostras de HDV-1 (I144V, Q148P, T159S, S170N, M171L, T180S, S191N e S206F). Com base nos resultados, a relação de prevalência do genótipo 3 sobre o genótipo 1 converge com estudos anteriores de genotipagem de cepas HDV isoladas na região. Algumas das mutações encontradas podem influenciar no curso natural da doença por serem localizadas em domínios importantes do antígeno delta, única proteína sintetizada pelo vírus e que possui papel

fundamental na replicação viral, além de localizarem-se em regiões que já foram defendidas anteriormente por outros autores como prováveis epítomos de reconhecimento pelo sistema imune humoral do hospedeiro. Quanto aos objetivos, a elucidação da dinâmica viral ainda será realizada, pois a análise é dependente de todo o genoma. Até então, cerca de 70% do genoma foi isolado, incluso o gene codificante do antígeno delta, permitindo a diferenciação genotípica e análise de mutações.

Palavras-chave: Filodinâmica, *Maximun Likelihood*, reação em cadeia da polimerase.

Apoio: Coordenação de aperfeiçoamento de nível superior - CAPES / Fundação Rondônia de Amparo ao Desenvolvimento das Ações Científicas e Tecnológicas e à Pesquisa do Estado de Rondônia – FAPERÓ.

E-mail: Limafsn@hotmail.com