

Sequenciamento de Sanger do gene *UL97* do citomegalovírus para identificação de mutações associadas à resistência ao tratamento com ganciclovir

Anna Caroline Avila da Rocha¹, Grazielle Motta Rodrigues², Alessandra Helena da Silva Hellwig³, Dariane Castro Pereira⁴, Afonso Luís Barth⁵, Fernanda de-Paris⁴.

¹Programa de Vigilância em Saúde, Residência Integrada em Saúde, Escola de Saúde Pública do Rio Grande do Sul - ESP/RS - Porto Alegre (RS), Brasil.

²Laboratório de Biologia Molecular, Hospital Dom Vicente Scherer, Santa Casa de Porto Alegre, Porto Alegre (RS), Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS - Porto Alegre (RS), Brasil.

⁴Serviço de Diagnóstico Laboratorial, Unidade de Microbiologia e Biologia Molecular, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA - Porto Alegre (RS), Brasil.

⁵Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA - Porto Alegre (RS), Brasil.

Introdução: A DNAemia do citomegalovírus humano (HCMV) continua sendo uma preocupação significativa para pacientes transplantados. Particularmente preocupante é o surgimento de cepas com mutações, frequentemente localizadas no gene *UL97*, que podem conferir resistência a antivirais de primeira linha, como o ganciclovir (GCV), ressaltando a importância da detecção precoce dessas mutações para um manejo eficaz da viremia. Apesar da relevância do tema, estudos focados na resistência do HCMV são limitados, especialmente nos países em desenvolvimento, tornando escassos os dados sobre a prevalência de marcadores moleculares de resistência. **Objetivos:** Otimizar um protocolo de sequenciamento de Sanger para identificar mutações no gene *UL97* do HCMV associadas à resistência ao GCV em amostras de plasma de pacientes transplantados atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Métodos:** Foram analisadas amostras com carga viral de HCMV acima de 3.000 cópias/mL no exame de RT-qPCR (*ensaio Alinity m CMV*). O DNA viral foi extraído e amplificado por *Nested-PCR*. A amplificação foi confirmada por eletroforese em gel de agarose, e o produto foi purificado com a enzima *ExoSAP-IT PCR Product Cleanup* e sequenciados. As sequências obtidas foram alinhadas com a referência NC_006273.2 (cepa Merlin) pelo software *Unipro UGENE v.47.0* e analisadas quanto à presença de mutações associadas à resistência ao GCV. **Resultados:** Das 16 amostras sequenciadas, oito apresentaram substituições de nucleotídeos que resultaram em alterações de aminoácidos: N510S, P509L, A594V, C603W, D605E, A628T, H662Y. Notavelmente, as mutações A594V e C603W, associadas à resistência ao GCV, foram identificadas em quatro amostras. Além disso, três mutações com impacto fenotípico desconhecido (P509L, A628T e H662Y) e dois polimorfismos virais (N510S e D605E) foram detectados. **Conclusão:** Os resultados obtidos demonstraram a viabilidade da técnica para analisar as sequências nucleotídicas do fragmento que contém as principais alterações relacionadas com

resistência ao GCV. Essa abordagem pode aprimorar a compreensão da dinâmica genética do vírus e contribuir para o monitoramento de pacientes transplantados a longo prazo, especialmente em cenários com recursos limitados, como os sistemas de saúde pública de países em desenvolvimento.