



MESTRADO ACADÊMICO EM VIROLOGIA

Validação *in silico* de alvos específicos para detecção do vírus da imunodeficiência humana do tipo 2.

Larissa Mallmann

Diagnóstico em Virologia

Orientador^a: Dr^a. Juliane D. Fleck

Coorientador: Dr. Matheus Nunes Weber

Fevereiro de 2023



LARISSA MALLMANN

**VALIDAÇÃO *in silico* DE ALVOS ESPECÍFICOS PARA DETECÇÃO DO VÍRUS
DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA DO TIPO 2.**

Dissertação apresentada para
obtenção do grau de mestre em
Virologia pela Universidade
Feevale.

Orientador: Dr.^a Juliane D. Fleck

Coorientador: Dr. Matheus Nunes Weber

Fevereiro de 2023.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Mallmann, Larissa

Validação *in silico* de alvos específicos para detecção do vírus da imunodeficiência humana do tipo 2 / Larissa Mallmann – 2023.

27 f. : il. ; 30 cm

Orientadora: Prof. Dra Juliane D. Fleck.

Coorientador: Prof. Dr. Matheus Nunes Weber.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Feevale – Pós-graduação em Virologia, Novo Hamburgo, 2023.

1. HIV-2. 2. PCR convencional. 3. Teste molecular 4. Virologia. I. Fleck, Juliane D., orient. II. Weber, Matheus Nunes, coorient. III Título.

CDU 578

CDD 578

Bibliotecária responsável
Lizete Flores da Silva CRB10/2724

RESUMO

O vírus da imunodeficiência humana 2 (*Human immunodeficiency virus - HIV-2*), um dos causadores da AIDS, tem sido negligenciado pela comunidade científica. A carência de estudos referentes à patogenicidade, infecção, epidemiologia, tratamento e diagnóstico é evidente, ainda mais quando comparado aos estudos sobre o HIV-1. Isso deve-se ao menor número de infecções pelo HIV-2, sendo estimado entre 0,3 a 1% do total de casos de HIV. A maior porcentagem de casos de HIV-2 é relatada na África Ocidental, cujos países ainda estão em desenvolvimento. Muitos africanos migram desta região para os demais continentes, em busca de melhor qualidade de vida. Continentes como a Europa, América do Sul, América do Norte e Ásia relatam a incidência de casos de HIV-2. No Brasil, três estudos apresentaram casos de infecções pelo HIV-2, porém, metodologias para realizar o diagnóstico da infecção são escassas, como o caso de técnicas moleculares para a sua detecção, sendo mais comumente reportadas técnicas imunológicas. Com isso, o desenvolvimento deste trabalho teve o intuito de padronizar a detecção molecular do HIV-2 por protocolos de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) convencional, de uma e duas reações (*nested*), por meio de análises *in silico* e *in vitro*. A análise *in silico* foi realizada a partir de ferramentas da plataforma BLAST do NCBI e por alinhamento múltiplo de sequências. Os protocolos *in vitro* foram desenvolvidos empregando um controle positivo de HIV-2 sintetizado em plasmídeo. Foram testadas, *in vitro*, 56 amostras de indivíduos HIV-1 positivos em teste imunológico. Os resultados *in vitro* foram visualizados por eletroforese em gel de agarose. A especificidade foi considerada pelas análises *in silico*, uma vez que não houve reação cruzada dos *primers* com nenhum outro agente viral humano e pelo êxito no anelamento dos primers com o controle positivo. Já a sensibilidade das técnicas foi determinada pela visualização de bandas nas concentrações de 1×10^{-6} ng/ μ L e 1×10^{-11} ng/ μ L, para as PCRs de uma e duas reações, respectivamente, na eletroforese. Todas as amostras de voluntários da pesquisa foram negativas para HIV-2 em ambas metodologias testadas, sugerindo uma baixa circulação deste agente na região, assim como em outras localidades do mundo. O desenvolvimento de técnicas moleculares para a detecção do HIV-2 é relevante como estratégia para controle e combate contra a AIDS no País, visto que há casos no território brasileiro relatados na literatura.

Palavras-chave: HIV-2; PCR convencional; Teste molecular.

ABSTRACT

Human immunodeficiency virus 2 (HIV-2), one of the causes of AIDS, is neglected by the scientific community. The lack of studies regarding pathogenicity, infection, epidemiology, treatment, and diagnosis is evident, even more so when compared to studies on HIV-1. This is due to the lower number of HIV-2 infections, estimated at between 0.3 and 1% of all HIV cases. The highest percentage of HIV-2 cases has been reported in West Africa, whose countries are still developing. Many Africans migrate from this region to other continents seeking a better quality of life. Continents such as Europe, South America Asia, and the United States, are reporting a higher incidence of HIV-2 cases. In Brazil, three studies presented cases of HIV-2 infections, however, methodologies for diagnosing the infection are scarce, such as molecular techniques for its detection, immunological techniques being more commonly reported. Thus, this work aimed to standardize a molecular detection of HIV-2 by two conventional Polymerase Chain Reaction (PCR) protocols with one and two reactions (nested), analyzing them *in silico* and *in vitro*. The *in silico* analysis was performed using NCBI platform tools and multiple sequence alignment. The *in vitro* protocols were developed using a positive control of HIV-2 synthesized in a plasmid. Samples of 56 HIV-1 positive individuals by immunological test were tested in the *in vitro* methods. These results were visualized by electrophoresis in agarose gel. The specificity was considered by the *in silico* analysis, since there was no primer cross-reaction with any other human viral agent and by the successful annealing of the primers with the positive control. The sensitivity of the PCRs were determined by viewing bands at concentrations of 1×10^{-6} ng/ μ L and 1×10^{-11} ng/ μ L for one and nested reaction PCRs, respectively. All samples from research volunteers were negative for HIV-2 in both methods, suggesting a low circulation of this agent in the region, as well as in other locations around the world. The development of molecular techniques for the detection of HIV-2 is fundamental as a strategy to control and combat AIDS in the country since there are cases in the Brazilian territory reported in the literature.

Keywords: Conventional PCR; HIV-2; Molecular test.