

2010 Octubre, 2(1): 1-1

DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS BK EN RECEPTORES DE TRASPLANTE RENAL

Autores: Riva Omar, Cobos Marisa, Raimondi J. Clemente

Lugar de Trabajo -Laboratorio de trasplante de órganos y tejidos. Fac. Cs. Médicas, UNLP.
-Laboratorio BIONET

e-mail de contacto: oriva@hotmail.com ; mcbos@infobia.com.ar

Introducción

La infección primaria por virus BK ocurre durante la infancia permaneciendo latente en el tracto urogenital. En individuos que presentan alteraciones en la inmunidad celular, el virus se reactiva haciendo posible su detección en orina y sangre. En receptores de trasplante renal, la nefropatía producida por el virus BK puede llevar a la pérdida de la función del injerto.

El virus BK es miembro de la familia *Polyomaviridae*, presenta un genoma de ADN circular doble cadena unido en forma covalente. El componente esencial del virión es la proteína VP1. Es el único poliomavirus humano que puede clasificarse en cuatro subtipos mediante pruebas serológicas. Las diferencias antigénicas fueron asignadas a una región del gen VP1. Este hallazgo permitió la clasificación de los aislamientos virales por métodos moleculares. Hasta el presente, el análisis molecular permite relacionar los subtipos virales con la distribución de poblaciones humanas, pero se desconoce la relación entre la prevalencia de un subtipo y el estado clínico de los pacientes analizados.

Debido a la importancia del diagnóstico y seguimiento de la nefropatía causada por virus BK, se propone desarrollar las metodologías moleculares que permitan la detección y genotipificación del virus en receptores de trasplante renal.

Objetivos

- 1- Diagnosticar la presencia del virus BK por métodos moleculares en muestras de receptores de trasplante renal
- 2- Investigar la prevalencia de los subtipos del virus BK.

Materiales y métodos

1- Detección cualitativa del virus BK por el método de PCR: El molde para las reacciones de amplificación se obtuvo a partir de muestras de orina y sangre periférica de cada paciente remitido. La purificación de los ácidos nucleicos se realizó según lo descrito por Boom *et al* 1990. La metodología de PCR-Heminested se basó en lo descrito por Biel *et al*. 2000 (aplicado con modificaciones). Los productos de amplificación se visualizaron en geles de agarosa teñidos con Bromuro de etidio.

2- Genotipificación de aislamientos del virus BK: A partir de las muestras positivas logradas en la detección cualitativa, fueron seleccionados 6 aislamientos para el análisis de genotipificación, denominados LP01, 02, 03, 04, 06 y 08. La región del gen VP1 utilizada para tipificar los aislamientos de BK, se amplificó utilizando los cebadores descritos por TakasaKa *et al* 2004. Para permitir el análisis por secuenciación directamente de los productos de amplificación, en el extremo 5' de ambos cebadores se adicionaron secuencias del genoma del fago M13. A partir de 2 eventos de secuenciación, se construyó la secuencia consenso de cada aislamiento en estudio mediante el programa Vector NTI 9.0.0. La clasificación en subtipos mediante la construcción de árboles filogenéticos se realizó con el programa Mega 4.

Resultados

La metodología de PCR-Heminested permitió identificar la presencia del virus BK en 8 muestras de orina y 2 de sangre periférica, sobre un total de 40 pacientes en estudio.

Mediante el análisis filogenético se agruparon los aislamientos denominados LP 02, 03, 04, 06 y 08 dentro del subtipo I; y al aislamiento LP01 dentro del subtipo II. Actualmente se encuentra en proceso un tercer evento de secuenciación, para confirmar las secuencias en estudio y avanzar en la asignación de subgrupos dentro de cada subtipo viral.

Conclusiones

Las metodologías descritas permitieron la detección y genotipificación del virus BK en muestras de receptores de trasplante renal. Los análisis comentados posibilitan realizar estudios epidemiológicos y relacionar las características virales con la clínica de los pacientes.