

COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA PARA DETECÇÃO DO PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV)

Faria AMV*, Gehlen M, Grassi VMT, Silva MSN

Graduando em biomedicina- Bolsista FAPERGS - Alissonfaria27@hotmail.com Mestranda no PPGBiosaúde – mirelagehlen2@hotmail.com Mestranda no PPGBiosaúde – Vmgrassi@hotmail.com Professora do curso de graduação de Biomedicina/Farmácia e PPGBiosaúde – marcia_susana@hotmail.com

UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL- ULBRA

INTRODUÇÃO

HPV é o vírus responsável pela infecção sexualmente transmissível (IST) mais frequente no mundo todo. O HPV atinge a pele e as mucosas, podendo causar lesões relacionadas ao câncer, como o câncer de colo de útero, garganta ou ânus. O câncer cervical é o terceiro tipo de câncer mais comum em mulheres no Brasil, com uma incidência para 2016 de 16.340 casos novos (INCA, 2016.), tornando o HPV um dos grandes motivos de preocupação para a saúde pública. De acordo com ZAMPIROLO et al., (2007), existem duas principais técnicas para o diagnóstico do HPV: A captura híbrida e a reação em cadeia da polimerase (PCR). Para a realização desta, é necessário inicialmente, retirar o DNA genômico do microrganismo. Vários são os métodos utilizados para a extração de DNA, dentre elas o uso de kits comerciais específicos, o ultrassom, o uso de detergentes, a centrifugação, entre outros.

OBJETIVOS

O objetivo do trabalho é extrair DNA de HPV em amostras cervicais usando a técnica de ultrassom e comparar os resultados destas com os realizados através das extrações feitas com o kit comercial.

METODOLOGIA OU MATERIAL E MÉTODOS

No total, serão usadas 30 amostras que possuem resultado negativo para HIV, porém 15 com resultado negativo para HPV e 15 com resultado positivo para HPV. Inicialmente, para extração do DNA, utilizou-se o kit comercial High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche, USA), seguindo as instruções do fabricante. Com relação ao protocolo de extração pelo ultrassom: resumidamente, serão separados 200 µL de amostra em microtubo de 1,5 mL e serão adicionados 500 µL de tampão PBS (tampão fosfato PH = 6,8) com posterior agitação no vórtex e centrifugação de 10 minutos a 3.000 rpm. Em seguida, será retirado e desprezado o sobrenadante. No eppendorf com sedimento, serão adicionados 100 µL de água ultrapura e passados os tubos no vórtex até desmanchar o botão. Por conseguinte, será levado ao banho seco por 20 min a 95°C. Após, será colocado no banho de ultrassom durante 10 minutos a 30°C e centrifugado por 10 minutos a 3.000 rpm. Em seguida, será transferido o sobrenadante (onde está o DNA) para novos tubos.

RESULTADOS

Até o presente momento foi extraído o DNA do HPV das amostras cervicais pelo kit comercial. Após as extrações o DNA será usado para realizar a PCR com primers específicos para o HPV (GP5+ e GP6+) a fim de verificar o desempenho da técnica de extração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ZAMPIROLO, J.A.; MERLIN, J.C.; MENEZES, M.E. Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II) em Santa Catarina. RBAC, v 39, n 4, p 265-268, 2007.
Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa da incidência e mortalidade por câncer no Brasil 2016. Rio de Janeiro: INCA; 2016. [acesso em: Janeiro 2017]. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=456