

Sessão 16
Genética Humana B

139

APLICAÇÃO DA METODOLOGIA DE DETECÇÃO COLORIMÉTRICA EM PLACA DE ELISA PARA OS TIPOS ONCOGÊNICOS DE HPV-16, HPV-18 E HPV-31. *Thaís Martins Gomes, Regina Bones Barcellos, Mirela Verza, Franciele Rosso, Rosa Dea Sperhackle, Maria Lúcia Rossetti,*

Sabrina Esteves de Matos Almeida (orient.) (PUCRS).

A infecção por Papilomavírus Humano (HPV) é a doença viral sexualmente transmissível mais freqüente no mundo e uma das causas principais do câncer de colo uterino. No Brasil, em 2006, o risco estimado foi de 20 novos casos de câncer cervical a cada 100 mil mulheres. O diagnóstico precoce e de qualidade destas infecções é de suma importância na prevenção do câncer cervical. O objetivo deste trabalho foi aplicar a metodologia de detecção colorimétrica em placa de Elisa para os tipos oncogênicos de HPV-16, HPV-18 e HPV-31. Para a padronização foram utilizadas cepas de referência para HPV-16, HPV-18 e HPV-31. Estas foram amplificadas utilizando os *primers* biotinizados GP5+/6+, gerando um fragmento de 150pb. Sondas aminadas específicas para cada tipo viral foram dotadas em placa de ELISA. Os produtos biotinizados da PCR foram hibridizados a estas sondas. Para a detecção da hibridização foi utilizado o conjugado estreptavidina-peroxidase, que se liga à molécula de biotina do *primer*, e o substrato cromógeno TMB (tetrametilbenzidina), que desenvolve coloração azul nas amostras positivas. O sinal de hibridização foi medido por densidade óptica no comprimento de onda de 450nm em leitora de ELISA. Foram realizados testes entre as sondas específicas para cada tipo viral assim como testes cruzados para avaliar a especificidade das sondas. Do total de cepas analisadas, 100% destas hibridizaram corretamente com a sonda correspondente, não apresentando resultado cruzado entre as sondas e produtos amplificados dos diferentes tipos virais. Dentre os HPVs oncogênicos, os tipos -16, -18 e -31 destacam-se por apresentar as maiores taxas de prevalência no mundo inteiro (cerca de 99% das lesões malignas de colo de útero). Assim o desenvolvimento de testes para a detecção molecular dos tipos oncogênicos tornam-se essenciais, uma que evidenciam uma alta especificidade e sensibilidade, além de permitir a identificação direta do vírus.