



DETECÇÃO DE DNA DE HPV EM AMOSTRAS CERVICAIS

Alana Suertegaray de Souza¹, Mirela Gehlen², Ana Carla Marques da Costa³, Maria Lucia Rossett⁴

1 Biomedicina ULBRA; email: bizuca@hotmail.com; 2 Programa de Pós-Graduação em Ciência Pneumológicas, UFRGS, Porto Alegre; email: mirelagehlen@gmail.com; 3 Programa de Pós-Graduação em biologia molecular e celular aplicada a saúde, ULBRA; 4 Programa de Pós-Graduação em biologia molecular e celular aplicada a saúde, ULBRA; email: mrossett@terra.com.br;

INTRODUÇÃO

A infecção por *Papillomavírus humano* (HPV) é a infecção sexualmente transmissível (IST) mais prevalente no mundo todo. A doença induzida por este vírus é dependente de vários outros fatores que afetam o hospedeiro. O principal fator é a imunossupressão, principalmente associada à infecção por HIV. A replicação viral pode ser maior em indivíduos imunocomprometidos, contribuindo para maiores taxas de detecção e persistência viral.

OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo identificar DNA de HPV em amostras cervicais de mulheres com HIV e determinar o genótipo de HPV de alto risco na região do leste maranhense.

METODOLOGIA

As análises foram realizadas em amostras cervicais de pacientes portadoras de HIV que foram acompanhadas pelo Serviço de Atendimento Especializado/Centro de Testagem e Aconselhamento (SAE/CTA) na cidade de Caxias, Maranhão, no período de setembro de 2014 a setembro de 2016. Para realização da pesquisa, foi estimado um número (n) de 125 de mulheres com o HIV.

→ Extração do DNA

O DNA das amostras de células endocervicais foi extraído utilizando-se kit comercial High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche, EUA) seguindo as instruções do fabricante. Após a extração o DNA foi armazenado a -20°C.

Procedimentos Moleculares – PCR

→ Amplificação

o DNA extraído foi amplificado por PCR com os *primers* consenso (GP5+bio/GP6+) de uma região conservada de HPV, que geram um fragmento de 150 pares de base (pb) da região L1 do genoma viral.

→ Eletroforese

Os amplicons obtidos foram visualizados em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídeo. O tamanho dos fragmentos foi estimado por comparação com o marcador de tamanho molecular 100 pb (*ladder* 100 pb).

→ Hibridização

A detecção dos genótipos de alto risco foi realizada por hibridização em placa de ELISA com sondas específicas para os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59.

RESULTADOS

A prevalência de DNA de HPV em pacientes infectadas por HIV foi de 44,8%. Os genótipos mais frequentes foram HPV 18 (96,4%), seguido do HPV 16 (89,3%). O HPV menos frequente encontrado foi o HPV 52 (1,8%) (tabela 1). Apenas o genótipo HPV18 foi detectado sozinho (3,5%). Os demais genótipos foram detectados como múltiplas infecções (96,5%).

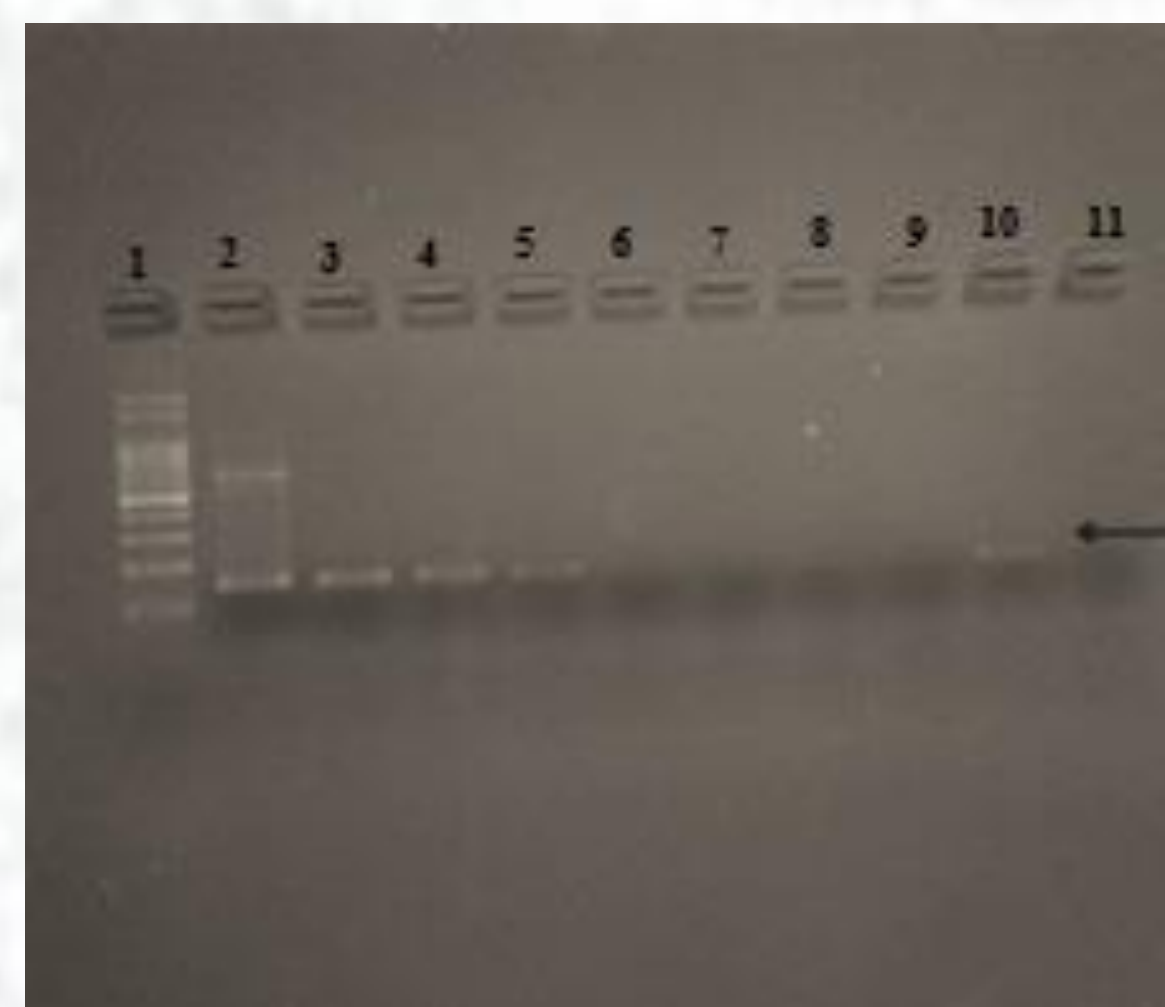


Figura 1: Fotografia de eletroforese em gel de agarose 2% de produtos amplificados por PCR. Canaleta 1: Marcador; Canaleta 2: Controle positivo; Canaleta 3 – 10: Amostras amplificadas por PCR; Canaleta 11: Controle negativo.

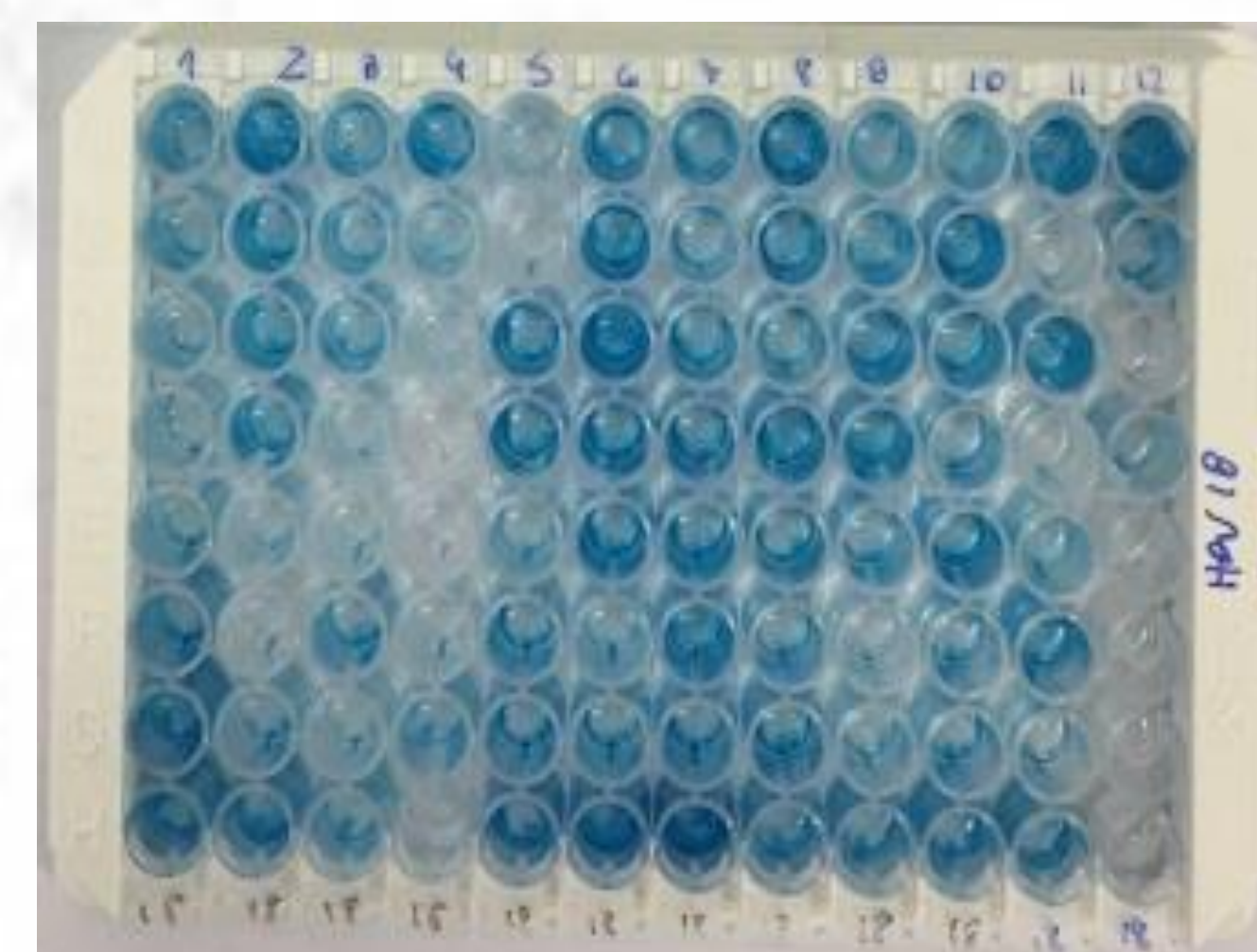


Figura 2: Placa de ELISA com sonda específica para o genótipo 18.

Frequência de coinfeção HPV/HIV

HPV 18	96,4%
HPV 16	89,3%
HPV 58	46,4%
HPV 56	33,9%
HPV 33	28,6%
HPV 59	10,7%
HPV 39	8,9%
HPV 31	7,1%
HPV 45	3,6%
HPV 52	1,8%

CONCLUSÃO

Neste estudo foi possível verificar a elevada prevalência de DNA de HPV em mulheres com HIV positivo e também de infecções com mais de dois tipos de HPV estudado.

REFERÊNCIAS

- Campos RR, Melo VH, Castilho DM. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana. Rev Bras Ginecol Obstet. 2005;27(5): 248-56
- Levi JE, Fernandes S, Tateno AF, Motta E, Lima LP, Eluf-Neto J, et al. Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. Gynecol Oncol. 2004;92:225-31.
- PALEFSKY JM. HPV infection and HPV-associated neoplasia in immunocompromised women. Int J Gynaecol Obstet. Germany, v. 94, n. 1, p. 6-64, 2006.