



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Padronização e determinação da carga viral em indivíduos infectados pelo Vírus da Hepatite B
Autor	MARIA LAURA HALON
Orientador	MARIA LUCIA ROSA ROSSETTI
Instituição	Universidade Luterana do Brasil

Ao longo das últimas décadas, a hepatite B tornou-se um grave problema de saúde pública, alcançando níveis alarmantes de infectados em todo o mundo. Estima-se que aproximadamente dois bilhões de indivíduos já tenham entrado em contato com o vírus da hepatite B (HBV) e destes, 400 milhões tornem-se crônicos. A grande preocupação em relação à doença reside na capacidade de se tornar uma infecção crônica, como evolução para cirrose e hepatocarcinoma. O diagnóstico clínico laboratorial, o monitoramento e o tratamento dos pacientes são importantes ferramentas no combate a hepatite B, uma vez que identifica os possíveis transmissores e limita a disseminação da doença. A determinação da carga viral tem importância prognóstica-terapêutica, pois seus níveis podem ser úteis na conduta clínica a ser seguida, tanto no acompanhamento quanto na tomada de decisão em relação a medicação a ser administrada. O PCR em Tempo Real tem sido utilizado para a quantificação do HBV e tem se mostrado muito sensível, acurado e com ampla faixa de linearidade. O presente estudo tem como objetivo principal a padronização da PCR em Tempo Real e a determinação da carga viral do HBV em indivíduos infectados em um sistema público de saúde na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. A extração do DNA viral foi realizada utilizando o kit comercial HiYiel™ Viral Acid Nucleic. Para a quantificação foi desenvolvido um padrão utilizando fragmento de 485 pb do HBV inserido no vetor plasmidial pUC18 e transformado em *E. coli*. A reação de PCR em Tempo Real foi padronizada utilizando a plataforma TaqMan®. Os iniciadores e a sonda foram desenhados alinhando-se sequências dos genótipos de HBV conhecidos (de A à J), utilizando os programas computacionais ClustalX, BioEdit e PrimerExpress. Diferentes concentrações de iniciadores e sonda foram testadas. Até o momento, foram coletadas 35 amostras de plasma de pacientes atendidos no Serviço de Infectologia do Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC/GHC). No processo de extração, houve maior rendimento de DNA viral com a adição de proteinase K após o tratamento da amostra. Os resultados preliminares demonstraram melhor desempenho da PCR em Tempo Real utilizando concentrações de 300nM e 250nM de iniciadores e sonda, respectivamente. Como perspectivas, pretende-se concluir a padronização com a determinação da curva de eficiência de reação utilizando-se os padrões internacionais e os padrões de quantificação desenvolvidos durante o estudo; acurar a técnica de quantificação comparando com amostras de carga viral conhecida e determinar a carga viral dos pacientes infectados pelo HBV.

Apoio: PROF/PNPD-CAPES, PADCT/FEPPS-05/2010