

P 4088

Determinação do limite mínimo de detecção da técnica de nested-PCR in house para vírus Epstein-Barr

Jéssica Lacerda Silva, Fernanda de Paris, Rodrigo Minuto Paiva
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Introdução: O vírus Epstein-Barr (EBV) é o agente etiológico da mononucleose e de certas síndromes linfoproliferativas. O diagnóstico laboratorial do EBV assume grande importância quando associado a enfermidades em pacientes imunossuprimidos, tais como HIV positivos e transplantados. O uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de sangue e líquor permite a detecção do DNA viral com alta sensibilidade e especificidade. O objetivo deste estudo foi verificar a sensibilidade analítica da técnica de PCR como um dos parâmetros de padronização e validação de ensaios in house (padronizados pelo próprio laboratório). **Métodos:** Foram preparadas quatro diluições seriadas (10, 25, 50 e 100 cópias/ μ L) de DNA viral do EBV a partir de uma concentração conhecida ($1,7 \times 10^4$ cópias/ μ L) de controle comercial quantificado (Vircell®, Granada, Espanha). As diluições foram submetidas a 20 ensaios de nested-PCR, de acordo com protocolo do Laboratório de Biologia Molecular. **Resultados:** As diluições de 10, 25, 50 e 100 cópias/ μ L foram encontradas em 50, 95, 100 e 100% das replicatas dos ensaios, respectivamente. **Discussão:** o limite mínimo de detecção ou sensibilidade analítica de um ensaio laboratorial é a concentração mais baixa do analito em uma amostra que pode ser consistentemente detectada, ou seja, que apresenta reprodutibilidade. Neste estudo, o limite mínimo de detecção da técnica de PCR para EBV foi 25 cópias/ μ L, sendo encontrado este valor em 95% das replicatas. Considerando dados da literatura e, por se tratar de um ensaio de PCR do tipo nested, o limite de detecção deste estudo indica que o ensaio apresenta uma boa sensibilidade, comparado a valores encontrados em outros estudos utilizando técnicas de biologia molecular. **Palavras-chaves:** PCR, limite mínimo de detecção, vírus Epstein-Barr.

μ l de lipofectamina. **Conclusões:** Entre os dois métodos testados, a lipofectamina mostrou ser a mais eficiente para a transfecção de hMSC, quando utilizados parâmetros específicos. O protocolo otimizado apresentou resultados satisfatórios e, em