

r

P 2110**Validação de PCR em tempo real com SYBR Green para diagnóstico laboratorial do Vírus Epstein-Barr (EBV)**

Odelta dos Santos Allende; Giovana Regina Weber Hoss; Denise da Silva Menezes; Elisa Costabeber; Juliana Paoli; Rodrigo Minuto Paiva; Jéssica Lacerda Silva; Patrícia Pacheco Viola; Ana Paula Alegretti - HCPA

Introdução: O EBV é o principal patógeno de linfócitos B, transmitido pela saliva e causa a mononucleose infecciosa. Os sintomas clínicos geralmente são brandos, com presença de febre e mal estar. Contudo, em imunossuprimidos, poderá se tornar severa e até mesmo letal ou associada com linfoma. O diagnóstico laboratorial do EBV geralmente é realizado por testes sorológicos; contudo, técnicas mais sensíveis ou na ausência de produção adequada de anticorpos pelos pacientes, as técnicas moleculares são necessárias. **Objetivo:** Validar uma metodologia mais sensível e específica de PCR em tempo real para aplicação na rotina da unidade de diagnóstico personalizado (UDP), em substituição da técnica convencional NESTED-PCR para detecção de EBV. **Métodos:** Foram desenhados oligonucleotídeos iniciadores (primers específicos) para o antígeno nuclear 1 de EBV. Inicialmente foi realizada uma curva de concentração de primers, seguida da elaboração da curva de eficiência através de diluições seriadas de padrões de DNA para obtenção da melhor eficiência da reação. Os padrões de DNA também foram utilizados para determinar o limite de detecção da reação. Para validação e implantação na rotina foram realizadas reações paralelas usando RT-PCR e NESTED-PCR. As amostras positivas foram confirmadas por sequenciamento que foi considerado o padrão-ouro. **Resultados:** A menor concentração de primer obtida foi 0,3uM. Os resultados da curva de eficiência foram: Slope -3, 481, R2 0,947 e a eficiência foi de 93,77%, os quais estão dentro dos limites aceitáveis. O limite de detecção do teste foi de 10 cópias/uL de DNA. Foram analisadas um total de 53 amostras clínicas; sendo 24 amostras de líquido, 20 sangue total, seis células e três de outros materiais. Das 53 amostras 23 foram positivas para EBV nas técnicas de RT-PCR e sequenciamento. **Conclusões:** Os resultados obtidos neste estudo nos permitiram implantar a técnica de RT-PCR utilizando o intercalante SYBR Green para o diagnóstico molecular do EBV. Essa metodologia proporcionará um diagnóstico com maior sensibilidade e precisão, rapidez e com menor custo, beneficiando o paciente. **Unitermos:** Vírus Epstein-Barr; Diagnóstico Laboratorial; PCR em tempo real