

VIII ENCONTRO DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

ENSAIO DE DOT-ELISA PARA A PESQUISA DE ANTÍGENOS DO HERPESVÍRUS HUMANO TIPO 8 (HHV-8) EM SALIVA: ESTUDO PILOTO

Silva JMK¹, Kimura RT¹, Caterino-de-Araujo A¹, Santos-Fortuna E¹.

Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP¹.

E-mail: jomatie@gmail.com

As técnicas de PCR e PCR em tempo real são empregadas para a detecção de DNA do HHV-8 (herpesvírus humano tipo 8, agente etiológico do sarcoma de Kaposi), porém apresentam alto custo e não se prestam para serem utilizadas em países com poucos recursos financeiros. O objetivo desse estudo foi elaborar um método de detecção de antígenos de HHV-8, como o Dot-Elisa, que possa ser utilizado nesses países. Salivas de pacientes com SK e controles sadios foram depositadas em membranas de nitrocelulose e testadas quanto à presença de antígenos de HHV-8, utilizando conjugados de peroxidase preparados a partir da fração IgG de soros de pacientes infectados por diferentes subtipos do HHV-8 (A, B, C e E). A fração IgG de soros que apresentavam altos títulos de anticorpos contra antígenos de fase latente e lítica viral foi purificada pela técnica do ácido caprílico (Steinbuch & Audran - 1969); a dosagem de proteínas seguiu a técnica de Lowry (1951) e a conjugação da IgG à peroxidase foi realizada conforme o método de Wilson & Nakane (1978) modificado. Foram testadas 115 amostras de saliva: 64 de pacientes com SK clássico (4) e SK/Aids (60); 19 de pacientes sem SK, mas com HIV/Aids; 32 de indivíduos sadios com sorologia negativa para o HHV-8. No grupo SK clássico e SK/Aids, o conjugado do subtipo C mostrou melhores resultados quanto à sensibilidade, enquanto no grupo HIV/Aids sem SK, os conjugados A e B mostraram maior especificidade. O conjugado do subtipo E apresentou piores resultados: 65,63% de positividade no grupo controle sadio. Portanto, o ensaio de Dot-ELISA utilizando IgG de soros policlonais como conjugado, não mostrou bom desempenho e deve ser substituído. Anticorpos monoclonais, dirigidos a epítomos que não apresentam reatividade cruzada, serão utilizados no preparo de novos conjugados e testados em futuro próximo.