

Comparação de Métodos de Extrações de DNA de Tecidos Parafinados para Testes Moleculares utilizando amostras do Estudo STOP-HPV

Autores: Amanda de Carvalho Robaina^{1,2}, Ana Paula Muterle Varela², Camila Bonalume Dall' Aqua², Isabel Cristina Bandeira da Silva², Lilian Menezes Solera^{1,2}, Eliana Márcia Wendland^{1,2}

1 Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brasil

2 Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil

Introdução: Análises moleculares podem complementar o diagnóstico de câncer em amostras de tecidos tumorais e regiões adjacentes. No entanto, uma limitação dessas amostras, geralmente impregnadas em parafina, é a obtenção do DNA em quantidade e qualidade adequadas para os testes moleculares, uma vez que a fixação do tecido pode degradar o DNA. Portanto, a utilização de um método de extração de DNA que atenda aos parâmetros dos testes moleculares é crucial para o aprimoramento do diagnóstico.

Objetivos: Comparar dois métodos de extração de DNA de tecidos conservados em blocos de parafina visando à realização de PCR em tempo real para genotipagem de HPV.

Delineamento e Métodos: Dois protocolos de extração de DNA foram utilizados em 10 tecidos tumorais parafinados de indivíduos com câncer de cabeça e pescoço participantes do Estudo STOP-HPV. Em um dos protocolos utilizou-se um kit comercial *MagNA Pure LC DNA Isolation Kit II (Tissue)* e o equipamento automatizado *MagNA Pure LC 2.0 da Roche Diagnostics*; no outro, utilizou-se solventes orgânicos em um protocolo *in-house*. O DNA extraído foi submetido à verificação de qualidade e quantidade utilizando BioSpec Nano bem como análise de eficiência de amplificação por PCR em tempo real com o kit *Anyplex™ II HPV28 (Seegene)*. Câncer de cabeça e pescoço pode estar associado à infecção por HPV e o kit contém primers e sondas para detecção do vírus e de um gene constitutivo (controle interno).

Resultados: A concentração de DNA obtida nos protocolos variou de 10,2 a 26,5 ng/μl e 102,2 a 680 ng/μl para os métodos automatizado e *in-house*, respectivamente. Em relação à qualidade, a razão entre absorbâncias medidas a 260 nm e 280 nm foi superior a 1,8 para o protocolo automatizado e aproximadamente 1,5 para o método *in-house*. Das 10 amostras extraídas por ambas metodologias, 5 apresentaram resultados válidos na PCR, independente do método de extração. No entanto, o método *in-house* permitiu a amplificação de 2 amostras a mais do que o automatizado.

Considerações Finais: Quando comparados os protocolos, o *in-house* permitiu obter DNA em maior quantidade com qualidade adequada e apresentou melhor desempenho no teste molecular. Além disso, o método dispensa a necessidade de aquisição de um equipamento de extração e o uso de kit comercial, revelando-se uma alternativa viável para a obtenção de DNA a partir de tecido parafinado. Essa metodologia torna o material acessível para análise molecular, permitindo complementar o diagnóstico de câncer.

Palavras chaves: Extração de DNA, Tecidos Parafinados, Análise Molecular