



DETECÇÃO DE DNA DE *LEISHMANIA* POR PCR A PARTIR DE AMOSTRA FIXADA EM CARTÃO FTA

¹Rolim, F., ²Santana, G., ²Rosseti, M.

¹Curso de Farmácia, ² Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Biologia Molecular Aplicada à Saúde,
ULBRA,
Canoas, RS.
Contato: mrossett@terra.com.br

INTRODUÇÃO

As leishmanioses estão entre as doenças mais negligenciadas do mundo. Estima-se que a cada ano 1,3 milhões de novos casos e entre 20 000 e 30 000 mortes ocorreram (OMS, 2015). Pertencem a um grupo de doenças causadas por mais de 18 espécies de protozoários do gênero *Leishmania*.

OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a eficácia do método de extração de DNA de plasma a partir do cartão comercial para amplificação por PCR.

MATERIAS E METODOS

As amostras

Para a padronização dos ensaios de PCR, foram utilizadas amostras de sangue (plasma) de caninos com resultado conhecido nos testes sorológicos para leishmaniose, provenientes do Laboratório Central (LACEN) da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde do Rio Grande do Sul (FEPPS/RS).

Extração de DNA das amostras de plasma canino

O isolamento de DNA será realizado através do método comercial para purificação de ácidos nucleicos, Kit Nucleid Acid and Protein Purification (Macherey-Nagel).

Extração de DNA das amostras de plasmas canino fixadas em cartão

A extração de DNA das amostras de plasma será realizada através do kit Whatman FTA Cards (Ge Healthcare Life Sciences).

Amplificação por PCR em tempo real

Foram utilizados os primers conforme descrito por RODGERS et al. (1990). A amplificação teve como alvo uma região de 120 pb de minicírculos do gênero *Leishmania*. A amplificação por PCR em tempo real foi realizada em um termociclador StepOne Real Time PCR Systems (AB Applied Biosystems) e os produtos amplificados foram detectados por meio do marcador (fluoróforo) SYBR® Green.

RESULTADOS

Até o momento foi realizada a padronização da reação de PCR em tempo real com 100 amostras de plasma de caninos com diagnóstico de leishmaniose positivo e negativo e com DNA extraídos com a técnica Kit Nucleid Acid and Protein Purification.

O PCR confirmou 35 amostras das 50 consideradas positivas nos testes sorológicos. Das 50 negativas, 45 foram também negativas no PCR e 5 foram positivas.

36 amostras positivas em todos os testes foram aplicadas no cartão e estão armazenadas para serem processadas no PCR em tempo real.

CONCLUSÕES

O presente estudo busca contribuir para a melhora do diagnóstico de leishmaniose em cães buscando formas que facilitem a coleta de sangue de animais e também facilite o transporte de DNA para laboratórios especializados em técnicas moleculares.