

AMOSTRAS DE SORO CANINO FIXADOS EM CARTÃO FTA ELUTE PARA DETECÇÃO DO DNA DE *Leishmania spp.* POR PCR EM TEMPO REAL

MORAES, Ianca Santos Petry¹
ROLIM, Fernanda²;
ROSSETTI, Maria Lucia²
ULBRA, Canoas- RS

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina constitui um importante problema de saúde pública por ser uma infecção parasitária sistêmica causada pelo protozoário intracelular obrigatório do gênero *Leishmania spp.* que são transmitidos pela picada das fêmeas do flebotomos infectantes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que nas Américas no período de 2001 a 2016 foram registrados 55.530 casos de leishmaniose visceral, com uma média anual de 3.457 dos casos. O diagnóstico pode ser realizado por métodos parasitológicos, imunológicos e molecular que consiste em uma técnica *in vitro* que permite a multiplicação do DNA por PCR. A extração do DNA para detecção do protozoário de *Leishmania spp.* pode ocorrer diretamente de amostras biológicas fixadas em cartões comerciais FTA Elute Whatman (GE Healthcare), proporcionando uma logística viável que reduz os custos de transporte e armazenamento.

OBJETIVO

O estudo teve como objetivo analisar a possível presença do DNA de *Leishmania spp.* em amostras de soros dos cães fixadas em cartão FTA Elute e comparar com o teste imunocromatográfico.

MÉTODOS

As amostras de soro dos cães foram provenientes do centro de controle de zoonose (CCZ) do estado de Santa Catarina com um total de 104 amostras, onde 63 do Município de Tubarão, e 41 de Criciúma.

Os resultados foram comparados com a pesquisa de anticorpos com metodologia utilizando o teste rápido TR DPP® leishmaniose visceral canina da biomanguinhos seguindo o protocolo conforme o fabricante.

O isolamento do DNA foi realizado utilizando o mini-kit comercial QIAamp DNA (qiagem) conforme as recomendações do fabricante.

Foram fixados 200 µL de soro de cada amostra no Cartão FTA Elute Whatman, com a retirada de um disco de 6 mm de diâmetro.

O alvo para amplificação era uma sequência de 120 pb da região conservada do minicírculo. A PCR em tempo real foi realizada como descrito por Rolim et al., 2016 para identificar o gênero *Leishmania spp.*



RESULTADOS

Os resultados mostraram que as amostras testadas 26 foram positivas quando o DNA era extraído pelo kit comercial. Destas, seis, também amplificaram quando o DNA era extraído do cartão. As positivas apenas com o cartão foram três, e uma amostra foi indeterminada (porém a mesma é positiva no kit comercial e no teste rápido). O teste rápido foi positivo em 12 amostras. Destas, apenas duas amostras foram positivas no PCR.

CONCLUSÃO

Em conclusão, para utilização do cartão comercial no diagnóstico da leishmaniose visceral canina por PCR em tempo real, ainda é necessário modificações para aumentar a sensibilidade.

REFERÊNCIAS

OMS. Organização Mundial da saúde. Informe epidemiologia das américas. 2016. Disponível em <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2016-cha-leish-informe-epi-das-americas.pdf>. Acesso em 04 Ago. 2019.

ROLIM, F.; CARVALHO, F. L. N.; BELLO, G. L.; GEHLEN, M.; HALON, M. L.; LEMOS, R. R.; BARCELLOS, R. B.; ROSSETTI, M. L. Leishmaniose Visceral Canina: detecção de DNA em soro por PCR em tempo real. *Revista de Iniciação Científica da ULBRA*, v. 14, p. 36-46, 2016.

¹Curso de Biomedicina, ²Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Biologia Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA, Canoas, RS.
Contato: iancamoraespetry12@hotmail.com