

Extração de DNA utilizando a resina Instagene Matrix® como ferramenta para otimização do diagnóstico molecular de leishmaniose visceral canina (LVC) em Mato Grosso do Sul, Brasil.

Recebido –
10/10/2017,
Aceito -
28/08/2018

Larissa Maria Dávalo Matheus¹, Dina Regis Recaldes Rodrigues Argeropulos Aquino^{2,3}, Miwa Fabiane Suzukawa³, Gilberto Gonçalves Facco², Aline Viana Bednaski², Doroty Mesquita Dourado^{1,2}, Eduardo de Castro Ferreira^{2,4}.

¹Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Universidade Anhanguera/Uniderp, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³Hospital Veterinário da Universidade Anhanguera- Uniderp, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

⁴Fundação Oswaldo Cruz Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Mato Grosso do Sul é considerada área endêmica para as leishmanioses e no ambiente urbano o principal reservatório da leishmaniose visceral é o cão. Parte das ações de controle dessa doença é a eutanásia de todos os animais com diagnóstico positivo. Este trabalho utiliza a resina Instagene Matrix® como forma alternativa de extração de DNA para diagnóstico molecular da LVC em esfregaço de medula óssea e fluido peritoneal de cão, salientando a alta eficiência, custo-benefício e agilidade da técnica. As duas amostras utilizadas no trabalho foram cedidas: uma pelo Hospital Veterinário da Uniderp e a outra do laboratório Diagnovet. Ambas as amostras foram coletadas de cães SRD (sem raça definida) adultos, diagnosticados com poucos sinais clínicos de leishmaniose visceral. A extração de DNA com a resina seguiu as indicações do fabricante. Foi recolhido 200 mL da amostra fluida, e no esfregaço em lâmina raspouse o conteúdo do esfregaço, utilizando uma lâmina de bisturi estéril, sendo esse recolhido em microtubo. Em seguida adicionou-se 500 µl de água para PCR. Então incubou-se as amostras a temperatura ambiente por 30 minutos e logo após centrifugou-as por 3 minutos à 12.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e foi adicionado 200 µl da resina Instagene Matrix®, novamente incubou-se as amostras por 30 minutos a 56°C. As amostras foram homogeneizadas em vortex por 10 segundos e incubadas pela última vez por 8 minutos a 100 °C. As amostras foram homogeneizadas novamente em vortex por 10 segundos e centrifugadas por mais 3 minutos a 12.000 rpm. O sobrenadante (50µl a 200µl) foi recolhido e foi utilizado para os testes moleculares. As amostras foram dosadas no Qubit® e ambas apresentaram adequada quantidade de DNA (acima de 100 ng/µl) comprovando a eficiência da técnica de extração. As duas amostras foram testadas pela PCR dirigida ao gene ITS1 de *Leishmania* spp. e ambas mostraram-se positivas. A extração de DNA utilizando a resina Instagene Matrix® se mostrou eficiente, de fácil manipulação e rápida execução na obtenção do DNA de qualidade de amostras biológicas de cães diagnosticados clinicamente com LVC.

Palavras-Chave: Instagene; LVC; PCR.

Apoio: Anhanguera-Uniderp, Fiocruz, CNPq, CAPES, FUNDECT.