

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TÉCNICAS DE OBTENÇÃO DE DNA DE SANGUE PERIFÉRICO

Leticia Batalini (leticia.sbatalini@gmail.com)

Silvana De Oliveira Castro (silvanadeocastro@gmail.com)

Herintha Coeto Neitzke Abreu (herinthaabreu@ufgd.edu.br)

Manoel Sebastião Costa Lima Junior (manoel.costa.lima@outlook.com)

As leishmanioses são doenças antroponozoonóticas com alto impacto na saúde pública, sendo estimado pela OMS que pelo menos 350 milhões de pessoas estão expostas à infecção. Essas doenças se manifestam de duas formas: leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose tegumentar (LT). A LV caracteriza-se por um acometimento de baço, fígado e linfonodos, enquanto a LT manifesta-se em lesões de pele e mucosas. O Mato Grosso do Sul é o estado do centro-oeste com mais casos de LV. Existem várias amostras clínicas que podem ser utilizadas para o diagnóstico das leishmanioses, dentre as quais o sangue periférico é uma das principais. Diversas técnicas para detecção do parasito são descritas, sendo a Reação em Cadeia Polimerase (PCR) altamente recomendada devido à alta sensibilidade e especificidade. Para a realização da PCR podem ser usadas diversas técnicas de obtenção do DNA das células sanguíneas, o que pode influenciar na eficácia da técnica. O objetivo do presente trabalho foi verificar a efetividade de três diferentes técnicas de obtenção de DNA de sangue periférico: com Duodecil Sulfato de Sódio 20% (SDS), com Guanidina-Fenol (GT) e KIT comercial (GE HealthCare®). Para isso, foram utilizadas 30 amostras de sangue periférico de humanos sadios, acrescidas de 104 promastigotas de *Leishmania infantum*. O DNA obtido foi quantificado em Biodrop®. Após a obtenção e quantificação de DNA, foi realizada a PCR com os iniciadores 13A/13B para detecção de *Leishmania* spp., e o produto amplificado foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 2%. Os resultados mostraram que a técnica com GT (221,19 ng/μL) apresentou maior rendimento de DNA em relação a SDS (27,26 ng/μL) e KIT comercial (11,14 ng/μL), porém as razões A260/230 e A260/280 foram superiores com a técnica com SDS, seguido de GT e KIT. Após a eletroforese, as bandas obtidas pelas técnicas de GT e SDS ficaram bem definidas, porém as bandas com GT foram mais destacadas. Em relação ao tempo de execução, a técnica com KIT foi mais rápida. Concluímos que todas as técnicas foram efetivas para obtenção de DNA, porém a técnica com GT apresentou o melhor desempenho.