

PESQUISA/INICIAÇÃO CIENTÍFICA - PESQUISA/ INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**EFICIÊNCIA DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA A PARTIR DE
OOCISTOS DE TOXOPLASMA GONDII: AVALIAÇÃO COMPARATIVA
ENTRE PROTOCOLOS IN-HOUSE E KITS COMERCIAIS**

Hanallybia Bretas Rocha (hanallybiabretasrocha@hotmail.com)

*Noemi Ester Dos Santos De Freitas Barbara
(noemi.freitas518@academico.ufgd.edu.br)*

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

Cristiane Maria Colli (cristianecolli@ufgd.edu.br)

A toxoplasmose é uma zoonose de relevância global causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, cuja principal fonte de infecção humana é o contato com oocistos eliminados nas fezes de gatos, os principais hospedeiros do parasita. A resistência de oocistos no ambiente e a dificuldade para a obtenção eficaz do material genético tornam o estudo e diagnóstico laboratorial mais desafiadores. Dessa forma, considerando a importância do desenvolvimento de métodos eficazes na extração de DNA, este trabalho teve como objetivo comparar diferentes protocolos de preparação e extração de DNA de oocistos de *T. gondii*, avaliando o desempenho de três métodos: Extração com SDS (dodecil sulfato de sódio) a 20%, com e sem tratamento com Proteinase K, e dois kits comerciais: PureLink PCR Purification (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) e HiPurA® Stool DNA Purification Kit (Maharashtra, India). Foram utilizadas amostras com oocistos previamente sonificados e não sonificados. Inicialmente, os oocistos foram descongelados e divididos em duas alíquotas, com e sem sonificação,

sendo então preparados para a aplicação de três protocolos de extração: (1) extração com SDS a 20%, com e sem Proteinase K, incubação a 65 °C, adição de clorofórmio, precipitação com etanol absoluto e ressuspensão do DNA em tampão TE; (2) extração com o kit comercial PureLink Purificatin, seguindo o protocolo do fabricante; (3) extração com o kit DNA HiPurA, que incluiu ressuspensão inicial, lise com Proteinase K, também conforme recomendações do fabricante. Após a extração, as amostras foram submetidas à PCR (reação em cadeia da polimerase) utilizando os primers B22 e B23, com controle positivo e negativo. A amplificação ocorreu por meio de ciclos de desnaturação, anelamento e extensão, e os produtos obtidos foram visualizados por eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídio. Os resultados indicaram que nenhuma das amostras extraídas com SDS 20%, mesmo tratadas com Proteinase K e independentemente da sonicação, apresentou bandas visíveis de DNA amplificado. No entanto, todas as amostras extraídas pelos kits comerciais PureLink e HiPurA apresentaram amplificação positiva, tanto para oocistos sonicados quanto não sonicados, revelando que a sonicação não interferiu na eficiência da extração quando esses kits foram utilizados. Conclui-se, portanto, que os kits comerciais são mais eficazes na extração de DNA de oocistos de *T. gondii* e que a etapa de sonicação não interfere na qualidade do material genético extraído. Este estudo contribui para a padronização de métodos laboratoriais mais eficientes para diagnóstico e pesquisas envolvendo toxoplasmose, estando alinhado com o Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 3 da ONU (Saúde e Bem-estar) ao colaborar com o avanço do conhecimento científico sobre uma zoonose de relevância global.

AGRADECIMENTOS: Universidade Federal da Grande Dourados, Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde (LPCS-UFGD), Grupo de Pesquisa "Diagnóstico, Clínica e Epidemiologia de Doenças Infecciosas e Parasitárias".

Palavras-chave: toxoplasma gondii; extração de dna; zoonose.