I Simpósio Regional da Amazônia Ocidental em Saúde Coletiva, Única e Pública

SIM AMO SAÚDE

PADRONIZAÇÃO DE DIFERENTES KITS PARA A EXTRAÇÃO AUTOMATIZADA DE MATERIAL GENÉTICO DE FLEBOTOMÍNEOS, PULGAS E CARRAPATOS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DE RONDÔNIA

I Simpósio Regional da Amazônia Ocidental em Saúde Coletiva, 1ª edição, de 26/04/2023 a 28/04/2023
ISBN dos Anais: 978-65-5465-028-1

COSTA; Glaucilene da Silva [1], SANTOS; Levy Assis dos [2], MATTOS; Cristiane Batista [3], MAROSO; Roberto Duarte [4], AVELINO; Elissâmia Guimarães Johnson [5], MENDONÇA; Aline Linhares Ferreira de Melo [6], SILVA; Cicileia Correia da [7]

RESUMO

Um dos papeis da vigilância epidemiológica é predizer o risco de surtos de doenças, incluindo as doenças que tem artrópodes como fontes de transmissão. Nos últimos 20 anos, a Biologia Molecular se expandiu em variados grupos de pesquisa para o diagnóstico molecular, e essa tecnologia vem sendo sistematicamente inserida nos laboratórios de Saúde Pública. Tendo em vista a necessidade de detecção dos agentes etiológicos de variados vetores no serviço de saúde para que se tenha um melhor conhecimento dos ciclos de transmissão regionais das doenças com participação de artrópodes, análise molecular é uma alternativa para um diagnóstico rápido na determinação da infecção natural desses organismos. O objetivo do estudo foi padronizar dois kits comerciais de extração de DNA automatizada para obter o material genético de patógenos a partir de flebotomíneos, pulgas e dos carrapatos, e incorporar essa técnica à rotina das atividades de Biologia Molecular para detecção de infecção natural nesses vetores. O material recebido pelo Núcleo de Biologia Animal e Entomologia Médica do LACEN-RO foi triado e o total de 100 flebotomíneos (32 pools), 50 carrapatos (10 pools e 40 amostras individuais) e 30 pulgas (10 pools e 7 amostras individuais). Cada amostra foi macerada em 200µL de tampão de lise e adicionados 10 µL de proteinase K. Após a centrifugação por 5 minutos a 12.500 rpm, foram retirados 200 µL do sobrenadante de cada amostra. Foram avaliados dois kits: (i) Extracta Kit DNA e RNA de Patógenos (MPTA-PU16-B) e (ii) Extracta Kit DNA de Bactérias (MBXD-PU16-B). Utilizou-se o protocolo específico para cada kit, e para a realização da extração automatizada foi utilizado o aparelho EXTRACTA® 32 (Loccus, Cotia, São Paulo), seguindo as instruções do fabricante. Foi eluído um volume final de de 80 µL. O produto de extração foi acondicionado em ambiente refrigerado (-20ºC) até a realização da PCR. Foram realizadas PCRs com

[1] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, glaucilene.gsc@gmail.com
[2] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, levysantos@lacen.ro.gov.br
[3] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, cristianebmattos@gmail.com
[4] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, maroso@gmail.com
[5] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, lacen_ro@hotmail.com
[6] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, lacen_ro@hotmail.com
[7] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, lacen_ro@hotmail.com

primers universais para a região do DNA mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I. A detecção dos produtos da PCR foi feita por meio de eletroforese em gel de agarose (2%), com produto de amplificação dos alvos testados de 658pb. A eletroforese permitiu a observação do DNA amplificado da região COI, evidenciando o sucesso da técnica de extração automatizada do DNA dos vetores. Este trabalho permitirá estudos epidemiológicos futuros acerca da identificação de vetores e dos seus parasitas envolvidos nos ciclos epidemiológicos de doenças que ocorrem no estado, de forma mais rápida e eficaz.

PALAVRAS-CHAVE: Amazônia Sul Ocidental, Biologia Molecular, Epidemiologia, Vetores

[1] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, glaucilene.gsc@gmail.com
[2] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, levysantos@lacen.ro.gov.br
[3] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, cristianebmattos@gmail.com
[4] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, maroso@gmail.com
[5] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, lacen_ro@hotmail.com
[6] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, lacen_ro@hotmail.com
[7] Laboratório Central de Saúde Pública-Lacen, lacen_ro@hotmail.com