

## XIV Salão Iniciação Científica da PUCRS

### Uso da Técnica da PCR Para Diagnóstico da Angiostrongiliase Abdominal em Blocos Parafinados.

Carla Aristonara Müller<sup>1</sup>, Rubens Rodrigues<sup>2</sup> Carlos Graeff-Teixeira<sup>1</sup> e Ana Cristina Aramburu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Parasitária, PUCRS <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Faculdade de Medicina, UFRGS

#### Resumo

Angiostrongiliase abdominal (AA) é uma infecção causada por um nematódeo que tem como hospedeiro natural roedores silvestres, o *Angiostrongylus costaricensis*. Essa parasitose tem no Brasil, o Rio Grande do Sul como o estado com mais casos registrados e diagnosticados. O diagnóstico definitivo da AA depende do encontro de estruturas parasitárias nos cortes histológicos de peças cirúrgicas dos pacientes com complicações da doença. Quando as estruturas parasitárias não são encontradas, o diagnóstico é presuntivo. A técnica da PCR pode contribuir para elucidação diagnóstica desta parasitose, ao identificar fragmentos de estruturas do parasito a partir de blocos parafinados (BP) de peças cirúrgicas. Esse trabalho tem como objetivo detectar o DNA do parasito em amostras de BP em casos confirmados e suspeitos da infecção. Um total de 20 BP de cada condição foram testados. O DNA foi extraído a partir de cortes com 5 µm de espessura dos fragmentos emblocados. Aproximadamente 25 mg de tecido parafinado foi embebido em xileno, centrifugado, lavado com etanol 100% e secado a temperatura ambiente. Para extração foi utilizado o kit QIAamp DNA FFPE tissue. A quantificação do DNA foi feita a partir do kit Qubit Fluorometer. Os iniciadores foram desenhados a partir de sequências publicadas de mRNA de *A. cantonensis* (Genbank U17585). A reação de amplificação foi realizada com um volume final de 25 µL de solução 0,4 µM dos iniciadores, utilizando TAQ DNA Polimerase, nas seguintes condições: 94 °C por 4 min, 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 58 °C por 2 min, e 72 °C por 10 min no termociclador. Para a verificação do amplicon, com produto esperado de 239 pb, foi utilizada a eletroforese horizontal em gel de agarose, com brometo de etídio. Como controle negativo, foram incluídos 5 amostras de tecido emblocado de pacientes com diagnóstico de neoplasia na parede do intestino, sem evidências de processo inflamatório eosinofílico. Como controle de especificidade foram utilizadas 4 amostras de cortes histológicos de intestino com outros parasitos, especialmente *Trichuris trichiura* e *Enterobius vermicularis*. Vermes adultos de *A. costaricensis* foram utilizados como controle positivo da reação. Das 20 amostras de paciente com suspeita de AA 6 amplificaram o DNA de *A. costaricensis*, já nos casos confirmados 9 obtiveram PCR positiva. Nos controles de especificidade nenhum ocorreu amplificação o que mostra que a PCR pode ser uma forma de diagnóstico em casos suspeitos de AA.

#### Palavras-chave

Blocos de Parafina; DNA; Diagnostico Molecular; Angiostrongilíase Abdominal