

Comparação entre papeis de filtro para detecção de *Plasmodium* sp

Rivânia R. Silva¹; Francisco L. S. Rodrigues¹; Glauciane S. B. Tavares²; Alzemar A. Lima¹; Mauro S. Tada¹; Joana D`Arc N. Costa¹

¹ Centro de Pesquisa em Medicina Tropical - CEPEM, ² Faculdade São Lucas –

A utilização do papel de filtro como fonte de armazenamento de amostras biológicas, principalmente em estudos epidemiológicos, tem suas vantagens: o baixo custo, fácil transporte das amostras em áreas longínquas, quantidade de amostra, entretanto necessita de cuidados para manter a molécula de DNA íntegra, bem como: variações de umidade e temperatura que pode favorecer contaminantes como fungos e bactérias que comprometem os resultados. Justifica-se a realização desse estudo que objetivou comparar a sensibilidade de dois papeis de filtro – INLAB e Whatman[®] para o diagnóstico de *Plasmodium* sp e assim verificar a possibilidade da utilização do papel INLAB (como uma fonte viável de armazenamento de amostras biológicas, já que até então, não tem na literatura estudos que o utilizam para este fim e posterior extração de DNA). Foram selecionadas 50 amostras de pacientes com Gota Espessa (GE) positiva para malária, absorvidas em dois tipos de papeis de filtro, adicionando 100µl de sangue em cada poço, foi embalada em papel alumínio devidamente identificadas e refrigeradas a – 20°C. As amostras foram lizadas com o tampão PBS 1X e saponina 0,5% durante 10 minutos, em seguida lavadas durante 10 minutos, então extraídas, utilizando 65µl de Saponina/Tris/EDTA (BioAmerica), repetiu procedimento para os dois papeis de filtro. A qualidade e quantidade do DNA foi avaliada pela técnica da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR) utilizando a região do gene 18S de *Plasmodium small subunit ribosomal* RNA (ssrRNA) para amplificação de gênero e espécie específica (*P. falciparum* e *P. vivax*), e em seguida visualizado em gel de agarose 2%. O resultado da PCR foi de 85,1% (23/27) de positividade com 14,9% (04/27) de negativas para o papel INLAB e 21,7% (05/23) de positividade e 78,3% (18/23) negativas para Whatman[®]. De acordo com os papeis utilizados os resultados caracterizam o INLAB como satisfatório para obtenção e retenção de sangue total, comparado ao outro que obteve resultado inferior, apesar de outros estudos destacar o Whatman[®] com melhores resultados, comparado a outros papeis de filtro. A partir desse trabalho foi possível observar a sensibilidade do papel INLAB e a possibilidade de uso para armazenamento de amostras biológicas e para extração de DNA com produto final íntegro e de boa qualidade para amplificação. Contudo fatores pre - analíticos, analíticos e pós - analíticos devem ser avaliados, uma vez que os interferentes nos procedimentos durante o diagnóstico podem afetar o resultado final. A sensibilidade foi comparada entre cada papel, visando uma alternativa de baixo custo e de boa qualidade para diagnóstico do parasito da malária em áreas endêmicas.

Palavras-chave: Papel de filtro, *Plasmodium*, extração de DNA

Apoio: Centro de Pesquisa em Medicina Tropical – CEPEM/ SESAU