

RESUMO - HELMINTOLOGIA

EXTRAÇÃO DE DNA EM TOXOCARA SPP.: O MELHOR MÉTODO DEPENDE DA AMOSTRA?

Valeria De Jesus Borges (valeriaborgesdejesus@gmail.com)

Vivian Samille Ferreira Firmo (vivianffirmo@gmail.com)

Joelande Esquivel Correia (JECORREIA@UEFS.BR)

Aristeu Vieira Da Silva (aristeuvsilva@uefs.br)

A toxocaríase é uma zoonose amplamente distribuída e negligenciada cujo diagnóstico e compreensão epidemiológica dependem de ferramentas moleculares robustas. Contudo, a obtenção de DNA de alta qualidade a partir de amostras ambientais e de ovos de *Toxocara* spp. representa um grande desafio metodológico, limitando frequentemente o sucesso em análises de sequenciamento genético e estudos de filogenética. Buscando transpor essa barreira técnica, o presente estudo teve como objetivo comparar a eficiência de dois protocolos de extração de DNA — clássico (baseado em fenol, clorofórmio e tiocianato de guanidina) e magnético (sistema semi-automatizado por esferas magnéticas) — aplicados a vermes adultos e ovos do parasito. O desenho experimental envolveu 48 amostras biológicas (24 adultos e 24 ovos), avaliando variáveis como o meio de armazenamento/ressuspensão e a aplicação de

choque térmico. O material extraído foi analisado quanto ao rendimento, pureza e sucesso de amplificação por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) para os genes mitocondriais *pcox1* e *pnad1*. Modelagem hierárquica bayesiana (MHB) foi realizada sobre os resultados usando scripts em R refinados e validados usando a plataforma de inteligência artificial generativa ChatGPT Thinking 5.5. Os resultados evidenciaram que a eficiência da extração é altamente dependente do tipo de amostra. Nos vermes adultos, o método clássico gerou maior rendimento absoluto de DNA (mediana de 474,4 ng/μL); entretanto, o sistema magnético foi capaz de produzir extratos de pureza significativamente superior, o que se traduziu em um sucesso de amplificação muito mais robusto, sobretudo para o gene *pcox1* (100% de positividade). Isso demonstra que, em tecidos adultos, a qualidade do DNA é mais determinante para a PCR do que sua concentração aparente. Por outro lado, para as extrações a partir de ovos, o padrão inverteu-se: o método clássico foi claramente superior ao magnético, proporcionando simultaneamente os maiores rendimentos (58,4 ng/μL vs. 6,6 ng/μL), a melhor relação de pureza e os índices mais elevados de positividade global na PCR. O efeito do choque térmico nos adultos não foi consistente em influenciar a amplificação. Conclui-se que a padronização laboratorial deve considerar a natureza da amostra, recomendando-se fortemente o método clássico para extração em ovos e o sistema magnético para vermes adultos. Essas descobertas são essenciais para otimizar rotinas moleculares e garantir a viabilidade de análises complexas na área da filogenética e diagnóstico epidemiológico da toxocaríase.

Palavras-chave: toxocaríase; diagnóstico molecular; sequenciamento genético; filogenia; qualidade de ácido nucleico.