



## Hibridização *in situ* para detecção histopatológica de *Angiostrongylus costaricensis*.

Debora de Castro Lima<sup>1</sup>, Carlos Graeff-Teixeira<sup>2</sup> (orientador)

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia, PUCRS, <sup>2</sup> Faculdade de Biociências, PUCRS

### Resumo

A angiostrongilíase abdominal foi primeiramente descrita na Costa Rica, porém diversos outros casos foram reportados nos Estados Unidos até o norte da Argentina, incluindo o Brasil. O ciclo de vida do *Angiostrongylus costaricensis* necessita de roedores como hospedeiros definitivos e moluscos como hospedeiros intermediários. Larvas de primeiro estágio (L1) saem nas fezes dos roedores e infectam moluscos onde se desenvolvem até a forma infectante L3. O diagnóstico se dá ao exame histopatológico de peças cirúrgicas ou de biopsias, onde são visualizados ovos e/ou larvas, associados à elevada eosinofilia. Em alguns casos apenas o infiltrado eosinofílico é presente, não havendo estruturas parasitárias que confirmem a infecção por *A. costaricensis*. Este trabalho tem como objetivo aplicar a técnica de hibridização *in situ* em cortes histológicos na tentativa de capturar material genético do parasito em amostras onde as estruturas parasitárias já não mais estão presentes. Para tanto, serão utilizadas peças emblocadas em parafina de roedores infectados experimentalmente com *A. costaricensis* provenientes de um trabalho relacionado.

Como controles negativos serão utilizados cortes histológicos de vermes de *Schistosoma mansoni*, *Ascaris lumbricoides* e cortes de cérebro de *A. cantonensis* como controle positivo. A sonda de hibridização será preparada a partir de DNA genômico extraído de vermes de *A. cantonensis* com kit DNAeasy (Quiagen). O DNA será fragmentado em sucessivos choques de temperatura para atingir fragmentos em torno de 500pb. No preparo da sonda serão incorporados nucleotídeos contendo biotina utilizando-se o kit Bio-link??. As lâminas serão desparafinadas e incubadas com o mix de hibridização (foramida 50%, Dextam 4%, SSC 2x, SDS 13%, 100ng da sonda) por 16h e reveladas com substrato de fosfatase alcalina (BCIP/NBT) a lâmina em câmara úmida a 37°C.

As lâminas serão visualizadas em microscópio óptico e caracterizadas positivas aquelas que apresentarem marcação. Resultados preliminares mostram que as lâminas previamente confirmadas com *A. costaricensis* pelo método de coloração por HE, também revelaram ser positivas por este método, porém houve uma reação cruzada já que a lâmina de *S. mansoni* também apresentou reação. Este método parece ser sensível, porém ainda pouco específico, portanto modificações no protocolo de preparo da sonda e/ou de hibridização terão de ser ajustados.