



METANÁLISE DE ESTUDOS DE PRECISÃO DE TESTES MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE PRIMERS PARA DETECÇÃO DE DNA de *Canis familiaris*; *Felis catus*; *Homo sapiens*; *Rattus sp.* e *Gallus gallus* EM SANGUE DE REPASTO DE FLEBOTOMÍNEOS

SOUSA, Guilherme Soares de¹; MINHARRO, Silvia²;

RESUMO

A identificação das fontes de repasto sanguíneo de flebotomíneos é fundamental para compreender os padrões epidemiológicos da leishmaniose. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica que utiliza *primers* com sensibilidade e especificidade variadas capazes de detectar DNA de vertebrados a partir do trato digestivo do vetor. **Objetivo:** Aplicar a metanálise como ferramenta para síntese de evidências dos melhores *primers* para detecção do DNA de vertebrados urbanos envolvidos na transmissão da leishmaniose (*Canis familiaris*, *Felis catus*; *Homo sapiens*; *Rattus sp.* e *Gallus gallus*) descritos em testes de diagnósticos, publicados na literatura científica. **Método:** Trata-se de uma revisão sistemática com metanálise realizada em seis bases de dados, sem restrição de idioma ou período, de acordo com as diretrizes PRISMA. Foram incluídos 25 estudos transversais publicados entre 2008 e 2024 que utilizaram PCR para identificação de fontes de sangue em flebotomíneos. Foram extraídos dados sobre o gene-alvo, tipo de PCR, *primers* usados e taxa de sucesso da técnica. **Resultados:** O gene do citocromo b (*cyt b*) foi o mais utilizado (80%), seguido pelos genes *COI*, *12S* e *PNOC*. A metanálise indicou uma taxa média de sucesso combinada de 71% (IC95%: 56–84%), com alta heterogeneidade entre os estudos ($I^2 = 94,9\%$), atribuída às diferenças metodológicas e à falta de padronização de protocolos. **Discussão:** A variabilidade das condições laboratoriais, o tamanho amostral e a diversidade de *primers* influenciam diretamente a eficiência da técnica. Apesar disso, a PCR mostra-se uma ferramenta robusta para identificação de fontes de repasto sanguíneo. **Conclusão:** Sequências direcionadas ao gene *cyt b* exibiram

¹ Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC/PIBITI). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Faculdade de Ciências da Saúde (FCS/UFT). guilherme.soares@ufnt.edu.br.

² Orientadora do Programa de Iniciação Científica (PIVIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências da Saúde. e-mail: silvia.barbosa@ufnt.edu.br



maior eficácia para detecção de DNA de vertebrados urbanos. Há necessidade de padronização metodológica para aprimorar a reprodutibilidade dos estudos.

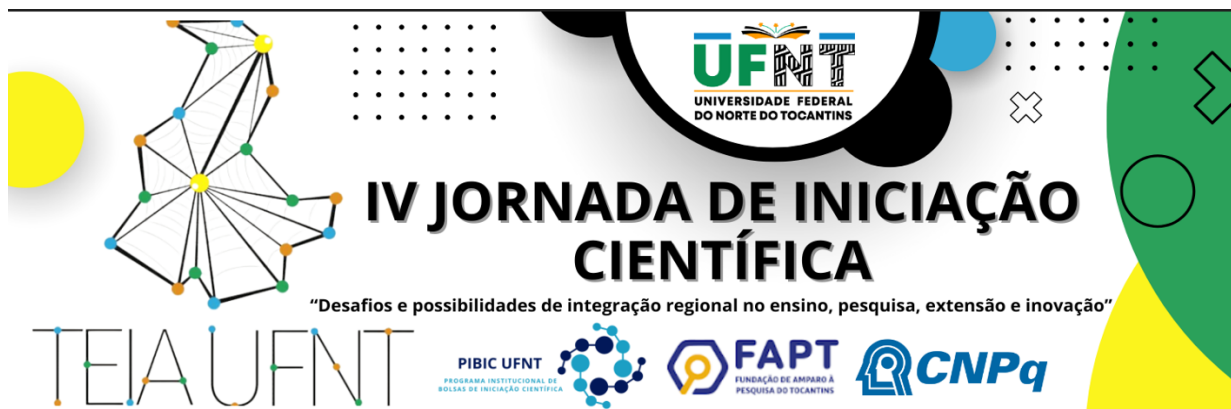
Palavras-chave: Leishmaniose. Phlebotominae. PCR. Primers do DNA. Metanálise.

I. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

A identificação das fontes de repasto sanguíneo de flebotomíneos é etapa útil na compreensão dos ciclos de transmissão da leishmaniose, pois permite reconhecer quais vertebrados participam da manutenção do parasita no ambiente. A análise do conteúdo intestinal desses insetos fornece um painel sobre os padrões alimentares do vetor, contribuindo para o delineamento de estratégias de vigilância e controle da doença. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) se destaca como técnica aplicada a essa investigação, por permitir a detecção de fragmentos de DNA dos hospedeiros a partir de pequenas quantidades de material biológico. Este trabalho apresenta uma revisão sistemática com metanálise acerca da eficácia dos *primers* utilizados para detecção de DNA de vertebrados urbanos — *Canis familiaris*, *Felis catus*, *Homo sapiens*, *Rattus* sp. e *Gallus gallus* — a partir de amostras de flebotomíneos, visando identificar aqueles com maior taxa de sucesso. A pesquisa insere-se na área de conhecimento das Ciências Biológicas e da Saúde, com ênfase na Parasitologia, Epidemiologia e Biologia Molecular, voltada ao diagnóstico e controle de doenças de relevância médica e em saúde pública.

II. BASE TEÓRICA

A leishmaniose é uma antropozoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida por flebotomíneos infectados durante o repasto sanguíneo em vertebrados suscetíveis (GONTIJO; MELO, 2004; REY, 2009). Os principais hospedeiros incluem animais domésticos e silvestres, como cães, gatos, galinhas e roedores, além de humanos (LAINSON; RANGEL, 2005). A interação entre vetor,



reservatórios e parasita compõe um sistema complexo que influencia a dinâmica da transmissão e a distribuição geográfica da doença (SRINIVASAN; PANICKER, 1992). Métodos sorológicos, como o ELISA, já foram utilizados para identificar fontes de repasto, porém apresentam baixa sensibilidade e risco de reações cruzadas (HAOUAS *et al.*, 2007). A técnica molecular de PCR surgiu como alternativa mais sensível e específica, permitindo detectar DNA de múltiplos hospedeiros a partir de pequenas amostras (MALEKI-RAVASAN *et al.*, 2009). Entre os genes mais empregados, destaca-se o citocromo b (*cyt b*), amplamente usado na identificação de vertebrados em estudos entomológicos. Essa abordagem molecular tem contribuído para a elucidação do comportamento alimentar dos vetores e para o aprimoramento das estratégias de controle da leishmaniose.

III. OBJETIVOS

Aplicar a metanálise como ferramenta para síntese de evidências dos melhores primers para detecção do DNA de vertebrados urbanos envolvidos na transmissão da leishmaniose (*Canis familiaris*, *Felis catus*; *Homo sapiens*; *Rattus sp.* e *Gallus gallus*) descritos em testes de diagnósticos, publicados na literatura científica.

IV. METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão sistemática com metanálise conduzida conforme as diretrizes PRISMA. As buscas foram realizadas nas bases de dados MEDLINE, EMBASE, LILACS, SCOPUS, WEB OF SCIENCE e SCIELO, sem restrição de idioma ou período, com base nos descritores “Phlebotomines”, “Polymerase chain reaction” e “Blood meal”, combinados com os operadores booleanos AND e OR. Foram incluídos estudos transversais que aplicaram PCR para identificar fontes de repasto sanguíneo de flebotomíneos e relataram a taxa de sucesso da técnica. A seleção dos

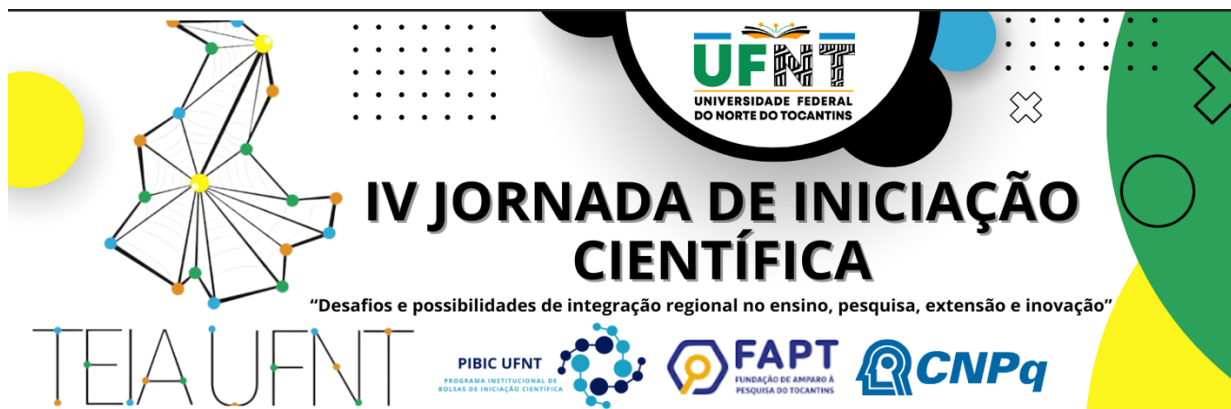


artigos foi feita de forma independente e pareada por dois revisores, com cálculo do índice Kappa de Cohen para verificar a concordância. Dados extraídos incluíram autor, ano, país, espécie de flebotomíneo, gene-alvo, tipo de PCR, primers utilizados, taxa de sucesso e número de amostras analisadas. A qualidade metodológica foi avaliada pelo checklist para estudos transversais do *Joanna Briggs Institute* (JBI) (PORRITT *et al.*, 2024). A metanálise foi conduzida utilizando transformação de Freeman–Tukey e modelo de efeitos aleatórios para calcular a taxa média de sucesso combinada, com intervalo de confiança de 95%. A heterogeneidade entre os estudos foi avaliada pelo teste I^2 .

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atualização das buscas identificou 949 registros. Após a triagem pareada (índice Kappa de Cohen = 0,667), a amostra final incluiu 25 estudos. Na avaliação da qualidade metodológica baseada no checklist JBI, 40% (10/25) dos estudos foram classificados como de qualidade alta e, portanto, baixo risco de viés, 44% moderada; 16% baixa. Apenas dois estudos atingiram pontuação máxima.

Para a metanálise, calculou-se a proporção de sucesso da PCR (fêmeas positivas) e erro-padrão por estudo. Aplicou-se correção de Haldane-Anscombe para proporções extremas e a transformação de Freeman-Tukey para estabilizar variância. O software JASP (v.0.18.3) (JASP *team*, 2024) foi utilizado nas análises. A análise revelou uma taxa média de sucesso de 71% (IC95%: 56–84%), para a PCR utilizada na identificação da fonte de repasto sanguíneo de flebotomíneos, com uma heterogeneidade elevada ($I^2 = 94,9\%$), atribuída às diferenças metodológicas como o tipo de PCR utilizado, método de extração do DNA, volume de DNA submetido ao teste, tamanho da amostra.



A PCR mostrou aplicabilidade prática razoável para identificação da fonte de repasto sanguíneo, porém a variabilidade limita a generalização das conclusões sobre superioridade de *primers* em termos de sensibilidade e especificidade. Isso requer a padronização metodológica (protocolo de extração, gene-alvo, controles e relato de parâmetros de PCR) para permitir comparação direta entre *primers*.

VI. CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta metanálise evidenciou que a maioria dos estudos incluídos apresenta delineamento transversal e limitações metodológicas que impedem conclusões causais sobre a relação entre a taxa de sucesso da PCR e a qualidade dos *primers*. A ausência de controle de fatores de confusão e a heterogeneidade entre métodos comprometem a comparabilidade dos resultados. A metanálise estimou taxa média de sucesso de 71% (IC 95%), confirmando a aplicabilidade da PCR. Recomenda-se a padronização de protocolos, controle de variáveis ambientais, diversificação das técnicas de coleta e relato transparente das estratégias de mitigação de vieses para ampliar a confiabilidade das evidências e análises comparativas robustas sobre a sensibilidade e especificidade dos *primers* utilizados.

VII. REFERÊNCIAS

COHEN, J. A coefficient of agreement for nominal scales. **Educational and Psychological Measurement**, v. 20, n. 1, p. 37-46, 1960.

GALVÃO, T. F.; PANSANI, T. de S. A.; HARRAD, D. Principais itens para relatar revisões sistemáticas e meta-análises: A recomendação PRISMA. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 2, p. 335-342, abr. 2015.



GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N.. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338–349, set. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2004000300011>.

HAOUAS, Najoua et al.. Desenvolvimento de ferramenta molecular para identificação de hospedeiros reservatórios de Leishmania por meio de análise de repasto sanguíneo em insetos vetores. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 6, p. 1054-1059, 2007. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2007.77.1054>.

JASP Team. JASP (Version 0.18.3)[Computer software]. 2024.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. Lutzomyia longipalpis and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 811–827, dez. 2005.

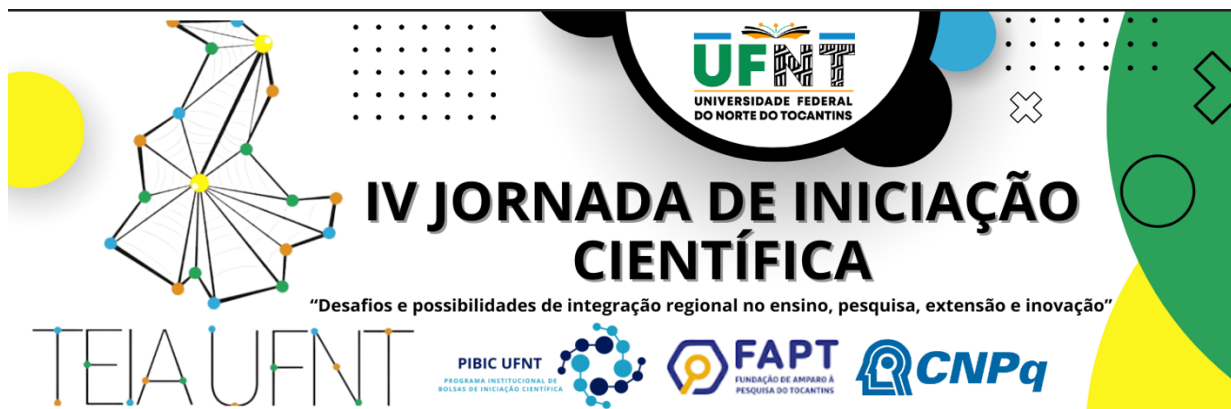
MALEKI-RAVASAN, N. *et al.* Identificação de farinha de sangue em flebotomíneos capturados em campo: comparação de ensaios PCR-RFLP e ELISA. **Jornal iraniano de doenças transmitidas por artrópodes**, v. 1, p. 8, 2009. PMID: 22808367.

MILLER, John J. The inverse of the Freeman–Tukey double arcsine transformation. **The American Statistician**, v. 32, n. 4, p. 138-138, 1978.

PORRITT, K. *et al.* Systematic reviews of qualitative evidence (2024). Aromataris E, Lockwood C, Porritt K, Pilla B, Jordan Z, editors. *JBI Manual for Evidence Synthesis*. JBI; 2024. Available from: <https://synthesismanual.jbi.global>. <https://doi.org/10.46658/JBIMES-24-02>

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

SRINIVASAN, R.; PANICKER, K. N. Identification of bloodmeals of phlebotomine sandflies using the agarose gel diffusion method. **The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 23, n. 3, p. 486–488, 1992.



VIII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil. Agradeço ao Programa de iniciação científica da UFNT/PROPESQ por oportunizar a experiência científica.