

DT406 - Diagnóstico e Tratamento de doenças infecciosas e parasitárias
[1432] **PCR EM TEMPO REAL DE AMOSTRA COLETADA POR TÉCNICA NÃO INVASIVA, SWAB DA CONJUNTIVA, EM CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR LEISHMANIA CHAGASI.**

NASCIMENTO, C.S.; JULIÃO, F.S.; CERQUEIRA, M.L.; NUNES, Z.O.; LIMA, A.S.; ROSA, C.G.; MOREIRA JR, E.D.

Cpqgm - Fiocruz, Salvador, Ba, Brasil.

Resumo:

INTRODUÇÃO No novo mundo, 90% dos casos de Leishmaniose Visceral Humana são oriundos do Brasil onde a maioria das notificações ocorrem na região Nordeste. A técnica de PCR quantitativo para determinação da carga parasitária de *Leishmania* sp, em amostras biológicas como medula óssea, pele e linfonodos, é um método sensível e específico. Porém, na obtenção destas amostras é utilizado métodos de coleta invasivos. A determinação da carga parasitária em sangue periférico de cães infectados por *Leishmania* parece ser menos sensível do que nas amostras mencionadas acima. Existem poucas informações sobre o uso de PCR quantitativo em amostras obtidas por técnicas de coleta não invasiva. Alguns autores descreveram o uso de amostras como: swab da conjuntiva, urina e sêmen na detecção do DNA de *L. infantum* para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina. **OBJETIVOS** Avaliar o uso do PCR em Tempo Real em amostra coletada por técnica não invasiva (swab da conjuntiva), para determinar a carga parasitária de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*. **MÉTODOS** Foram realizados inquéritos soropidemiológicos numa área endêmica, utilizando a Técnica de Enzimaimuensaio (ELISA), para identificação de cães infectados por *L. chagasi*. Os cães positivos foram eutanasiados e submetidos a exame de cultura e parasitológico direto para confirmação da infecção. Destes animais foram coletados também amostras de swab da conjuntiva para PCR em tempo real. A técnica de PCR em tempo real foi desenvolvida e padronizada utilizando um par de primers LEIF e LEIR e sonda LEIP selecionados no gene SSu rRNA. A seleção dos primers e sonda foi realizada previamente utilizando o programa Primer Express (Perkin-Elmer-Applied Biosystems). Esta sequência aparece 160 vezes no genoma de *Leishmania spp* sendo altamente conservado entre as espécies de *Leishmania*. A sonda fluorogênica foi sintetizada utilizando uma molécula FAM ligada na extremidade 5' e TAMRA ligada à extremidade 3' (Perkin-Elmer -Applied Biosystems). Para determinar a carga parasitária foi realizada curva padrão com o DNA obtido da cultura de *Leishmania chagasi* (MHOM/BR2000) nas concentrações variando de 10¹ a 10⁷ parasitas/ml. Cada ponto da curva foi testado em triplicata. A curva padrão apresentou Slope, -3.45; R square, 0.995. **RESULTADOS** Foram avaliados 1451 cães, dos quais 128 (8,8%) eram soropositivos. Entre os cães positivos, 29 foram selecionados aleatoriamente, submetidos a coleta de amostra conjuntival. Em todas as amostras de swab da conjuntiva analisadas o parasito foi detectado. A carga parasitária variou entre 1,8 parasitas/ml a 365,2 parasitas/ml, com mediana de 14,4 parasitas/ml. **CONCLUSÕES** Nossos resultados sugerem que swab da conjuntiva, amostra coletada por método não invasivo, poderá ter uma aplicação potencial no diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina e em estudos epidemiológicos para o controle da doença.

Fonte financiadora: CNPq e FAPESB