

DT405 - Diagnóstico e Tratamento de doenças infecciosas e parasitárias
[1427] **COMPARAÇÃO DA CARGA PARASITÁRIA EM DIFERENTES ESPÉCIMES BIOLÓGICAS DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR LEISHMANIA CHAGASI UTILIZANDO A TÉCNICA DE PCR EM TEMPO REAL.**

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 A leishmaniose visceral humana (LVH) é uma importante causa de morbidade e mortalidade no Brasil. Os métodos de controle até agora empregados não são eficientes. Uma das explicações para o insucesso destas estratégias é a presença de outros possíveis reservatórios, bem como as limitações dos métodos sorológicos utilizados no diagnóstico da leishmaniose visceral canina. Técnicas de diagnóstico molecular utilizando o DNA têm sido exploradas visando superar as limitações que os métodos diagnósticos de rotina apresentam. Uma variedade de espécimes biológicas de cães tem sido utilizada no diagnóstico molecular da leishmaniose visceral. O uso de método de biologia molecular quantitativo (qPCR) é sensível e pode ser aplicado em grande número de amostras. **OBJETIVO** Avaliar a carga parasitária em diferentes espécimes biológicas de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*, utilizando a técnica de qPCR. **MÉTODOS** Foram realizados inquéritos soroepidemiológicos numa área endêmica. Os cães soropositivos foram eutanasiados e submetidos a exame de cultura e parasitológico direto para confirmação da infecção. Foram coletados amostras de sangue periférico em todos os animais infectados. Coletou-se também aspirado de medula óssea e linfonodos para realização de qPCR numa amostra aleatória de 22 e 27 cães, respectivamente. A técnica de qPCR foi 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 utilizando o programa Primer Express (Perkin-Elmer-Applied Biosystems). Esta seqüência 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* em concentrações variando de 10^1 a 10^7 parasitas/ml. Cada ponto da curva foi testado em triplicata. **RESULTADOS** Entre os 98 cães soropositivos identificados, o DNA da *Leishmania* foi detectado em 66% (65/98) das amostras de sangue total (mediana de 2,6 parasitas/mL), em 100% (22/22) das amostras de medula óssea (mediana $39,8 \times 10^4$ parasitas/mL), e em 100% (27/27) das amostras de linfonodos (mediana 22×10^6 parasitas/mL). A carga parasitária em sangue periférico variou de 0,4 a 54,5 parasitas/mL, em aspirado de medula óssea de 102 a 87×10^6 parasitas/ml e em aspirado de linfonodo de 9 a 51×10^9 /mL. **CONCLUSÕES** O qPCR teve boa sensibilidade nas amostras biológicas estudadas, particularmente em medula óssea e linfonodos. A carga parasitária foi relativamente maior em linfonodos, seguido de medula óssea e foi inferior em sangue periférico. Estes resultados sugerem que o uso de qPCR em linfonodos pode ser utilizado no diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina.

Fonte financiadora: CNPq e FAPESB