

TÍTULO: AVALIAÇÃO DE PAPEL DE FILTRO COM AMOSTRAS DE SANGUE HUMANO NA TÉCNICA PCR EM TEMPO REAL PARA O DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA LEPTOSPIROSE

AUTORES: PRISCILLA ARAUJO BALBINO SEMBENELI^{1,2}; ELAINE DOS LIMA¹; GABRIELA DE SOUZA NOGUEIRA^{1,2}; BLANCO, RM¹; ROMERO, EC^{1,2}

INSTITUIÇÃO: 1. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, SÃO PAULO, SP (AVENIDA DR. ARNALDO, 355, 9º ANDAR, CEP 01246-902, SÃO PAULO – SP, BRASIL), 2. FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (AV. DR. ARNALDO, 455 - CERQUEIRA CÉSAR, PACAEMBU - SP, 01246-903, SÃO PAULO – SP BRASIL)

A leptospirose é uma zoonose, ocasionada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira spp.*, que possui 25 sorogrupos e mais de 300 sorovares reconhecidos, sendo o sorovar Copenhageni de maior prevalência no Brasil. Embora o teste padrão-ouro para diagnóstico sorológico seja o teste de aglutinação microscópica (MAT), métodos moleculares tais como PCR em tempo real têm sido cada vez mais utilizados para o diagnóstico da leptospirose, por ser rápido, precoce e fornecer um diagnóstico logo nos primeiros dias da doença, pois é capaz de detectar DNA de leptospiros patogênicas nos primeiros 5 a 10 dias. Frequentemente amostras clínicas precisam ser transportadas de áreas remotas para laboratórios de referência. Além disso, estudos epidemiológicos nessas áreas são difíceis de serem realizados pela dificuldade da coleta e transporte. Amostras de sangue colocadas em papel de filtro solucionariam as desvantagens de transporte que geralmente são feitos em tubos, acondicionados em isopor com gelo que podem derramar e necessitam de transporte rápido. O papel de filtro tem sido utilizado no transporte de amostras clínicas para várias doenças como alternativa porque pode ser armazenado seco, além de ser um método mais acessível. O objetivo do estudo foi avaliar a utilização de papel filtro com amostras de sangue humano, na técnica de PCR em tempo real para o diagnóstico da leptospirose. Foram utilizadas amostras de sangue contaminadas com leptospiros, sorovar Copenhageni, à fresco e secas em papel de filtro armazenados em temperatura ambiente por 7 dias e 1 mês, para determinar a estabilidade do teste. As amostras de sangue com leptospiros foram comparadas com amostras de sangue livre de leptospiros, em papel filtro e à fresco. O DNA do sorovar Copenhageni, foi utilizado como controle da PCR em tempo real, bem como TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) para amplificação. Amostras de sangue contaminadas com leptospiros tanto à fresco como colocadas em papel filtro apresentaram a mesma positividade quando armazenadas à temperatura ambiente, pelos períodos de 7 dias e 1 mês. Todas as amostras de sangue frescas, sem inoculação de leptospiros colocadas em papel de filtro, foram negativas na PCR. Em conclusão, amostras de sangue coletadas em papel de filtro é um meio vantajoso de transporte, já que é um método simples, onde apenas uma pequena quantidade de sangue é necessária, além de conservar a amostra para diagnóstico molecular.

Palavras-chave: Leptospirose, PCR em tempo real, Amostras de sangue, Papel de filtro

Agência de Desenvolvimento: CAPES