

**TÍTULO:** INFECÇÃO POR *Aspergillus* E FUNGOS DA ORDEM MUCORALES EM MODELO EXPERIMENTAL MURINO: AVALIAÇÃO DA PCR EM TEMPO REAL PARA DETECÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DOS PATÓGENOS EM BIÓPSIAS

**AUTORES:** NAVES, G.<sup>1</sup>; SANTOS, L.B.S.<sup>1</sup>; FREITAS, V.L.T.<sup>2</sup>; NETO, A.N.D.<sup>3</sup>; DEL NEGRO, G.M.B.<sup>1</sup>

**INSTITUIÇÕES:** 1. LABORATÓRIO DE MICOLOGIA MÉDICA (LIM-53)-HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FMUSP E INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL/USP; 2. LABORATÓRIO DE IMUNOLOGIA (LIM-48) – HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FMUSP; 3. DEPARTAMENTO DE EMERGÊNCIAS CLÍNICAS – FMUSP

**RESUMO:**

Nos últimos anos, tem sido relatado aumento de casos de infecções invasivas por fungos filamentosos em pacientes imunocomprometidos com elevada morbimortalidade. *Aspergillus* spp. são mais frequentemente isolados nessas infecções, contudo fungos da ordem Mucorales têm sido considerados patógenos emergentes. Os exames histopatológicos são os melhores métodos para demonstrar as hifas nos tecidos. Entretanto, muitas vezes as características morfológicas dos fungos não podem ser observadas, por haver poucos elementos presentes nos cortes histológicos, ou porque as hifas se apresentam fragmentadas, dificultando a identificação. O estudo teve como objetivo desenvolver um modelo experimental murino de aspergilose e mucormicose, para avaliar a técnica de PCR em tempo real (qPCR) para detecção e diferenciação desses fungos, em biópsias de tecidos a fresco e parafinadas. Três grupos de 15 camundongos BALB/C foram imunossuprimidos com ciclofosfamida e suspensões de 10<sup>6</sup> conídios/ml de *A. fumigatus* e *R. arrhizus* foram inoculadas por via intravenosa; o terceiro grupo recebeu somente PBS (grupo controle). Os órgãos (pulmão, fígado, baço, rins e cérebro) foram retirados dos animais e, fragmentos de tecidos a fresco, bem como parafinados, foram submetidos a extrações de DNA. Plasmídios contendo insertos das sequências gênicas específicas de cada fungo foram obtidos por clonagem. As amplificações por qPCR foram realizadas em equipamento *ABI Step One Plus* com *Power SYBR®Green PCR master mix*. O limiar de detecção dos testes foi de 20 fentogramas de material genômico e de 10<sup>2</sup> clones, para ambos os fungos. Todos os órgãos dos animais infectados apresentaram hifas, e a qPCR detectou DNA em 100% das biópsias analisadas (a fresco e parafinadas). Amostras dos animais infectados não amplificaram com os *primers* heterólogos, assim como biópsias de animais do grupo controle apresentaram resultados negativos nas amplificações (100% de especificidade). Esses resultados prévios demonstram que a qPCR é um método capaz de detectar e diferenciar os patógenos com elevado grau de sensibilidade e especificidade, podendo ser utilizada com elevado potencial no diagnóstico diferencial dessas infecções em exames histopatológicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aspergilose, mucormicose, PCR em tempo real, biópsias, histopatológico