

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE METODOLOGIAS DE PCR E CULTURA NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA.

Luiz E. Ristow, Afonso A. P. Júnior, Cristiano A. P. Tavares

TECSA Laboratórios
tecsa@tecsa.com.br

Conforme dados epidemiológicos do Ministério da Saúde, a leishmaniose visceral atinge 19 estados brasileiros, em especial a região nordeste, onde se concentram 77% dos casos humanos da doença. O diagnóstico é baseado em análises sorológicas, sendo o ELISA e a RIFI as técnicas reconhecidas pelo Ministério da Agricultura. Outras técnicas diagnósticas, apesar de não reconhecidas pelos órgãos de saúde, tem sido amplamente requeridas como alternativas de diagnóstico complementar e, ou por vezes, confirmatório. Uma delas é a PCR, considerada como de alta especificidade e sensibilidade, tanto para amostras humanas quanto caninas, seja em leishmaniose visceral ou tegumentar. Também baseada na presença do parasito, é o método de Cultivo Celular. O objetivo do presente estudo foi comparar 2 metodologias diagnósticas distintas, molecular e cultivo celular/*in vivo*, para o diagnóstico complementar da LVC utilizando amostras de punção de medula óssea ou linfonodos. As amostras foram coletadas de 20 cães suspeitos e remetidas ao laboratório durante o mês de março de 2009 sendo realizadas as análises de PCR e Cultura. O material genético para processamento do PCR foi obtido após extração, utilizando-se kit comercial (Wizard Genomic kit, Promega, USA). O DNA isolado foi submetido a PCR e o produto amplificado foi analisado em gel de agarose 2%, transferido para membrana de náilon e hibridizado com sonda de *L. braziliensis*. Para o cultivo celular, as amostras foram submetidas à semeadura em meio especial (Ágar modificado - NNN), com repiques semanais durante 5 semanas. As amostras foram também submetidas ao Cultivo Animal (*in vivo* - inoculação intraperitoneal das amostras suspeitas em cobaias). Como resultados das análises, obtiveram-se 50% (10 amostras) positivas na técnica biomolecular PCR ao passo que nas técnicas de cultivo, 100% apresentaram ausência de crescimento do agente, sendo essa confirmada por pesquisa direta de promastigotas em esfregaços oriundos do material cultivado e aspirados de baço e fígado de cobaias e posteriormente corados por Giemsa e Gram. Diante dos resultados, pode-se inferir que a técnica de PCR é o recurso mais sensível e específico quando comparado ao Cultivo celular, sendo que a detecção de um simples componente celular (proveniente de microrganismo vivo ou morto) da amostra pode ser extraído e replicado várias vezes, sem sofrer interferências pré e trans-analíticas como a presença de parasitos viáveis na amostra, preparo de meios, conservação, armazenamento, incubação e leitura.