

350

AVALIAÇÃO DE NOVOS PRIMERS E OTIMIZAÇÃO DA PCR PARA O DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE. Simone Simionatto, Sandra D. D. Jouglard, Odir A. Dellagostin (Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS).

A leptospirose, causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*, é uma zoonose das mais difundidas no mundo. Essa doença atinge indiscriminadamente humanos e animais, causando perdas econômicas e materiais. Técnicas de diagnóstico atualmente disponíveis apresentam baixa sensibilidade e/ou especificidade, principalmente em estágios iniciais da doença. Por isso, novas técnicas baseadas em biologia molecular, mais sensíveis e específicas estão sendo desenvolvidas. A técnica de PCR (polymerase chain reaction) é capaz de amplificar um fragmento do DNA bacteriano, sendo um método rápido e sensível para a detecção de leptospirosas. Este trabalho objetivou a avaliação de um novo primer Lip que amplifica uma região de 264 bp do gene lipL 32 e otimização da PCR para o diagnóstico de leptospirose. Para determinar a especificidade e sensibilidade dos primers, um total de 7 sorovares saprófitas e 35 sorovares patogênicos foram testados. Além desses, DNA de diferentes espécies bacterianas também foram incluídas neste estudo. Culturas de leptospirosas foram crescidas em meio EMJH e enriquecidas com 1% de soro de coelho. As culturas foram diluídas de 10^8 a 10^0 em urina ou água e centrifugadas. O sedimento foi ressuscitado em 50 μ l de água e fervido por 10 minutos e utilizado como DNA molde para o PCR. O número de espiroquetas foi determinado usando-se a câmara de Petroff-Hauser. Somente sorovares patogênicos de leptospira amplificaram. A sensibilidade do PCR foi de 40 bactérias por mililitro. (Fapergs)