

# FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE DE QPCR PARA MYCOBACTERIUM LEPRAE EM AMOSTRAS EM CONTATOS DE PACIENTES COM HANSENÍASE MENORES DE 16 ANOS DE IDADE

XIII Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação

Andressa Almeida Albuquerque, Camilla dos Santos Mateus, Rafaela Fabiana Crispim Rocha, Lucas Oliveira Lima, Raphael de Oliveira Rodrigues, Aparecida Tiemi Nagao Dias

**Introdução:** A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*. O exame físico não identifica os estágios iniciais da doença, quando as manifestações clínicas ainda não estão presentes. Dessa forma, um método de detecção precoce do bacilo é fundamental para a avaliação de contatos de pacientes com hanseníase, principalmente crianças e jovens, pois diagnóstico nessa faixa etária indica transmissão ativa do bacilo na comunidade. **Objetivo:** Empregar um método de PCR em tempo real por SYBR Green para avaliar a presença de DNA de *M. leprae* em contatos de pacientes com hanseníase. **Metodologia:** DNA de *M. leprae* (padrão primário) foi obtido a partir de bacilos liofilizados (BEI Resources, ATCC, EUA). Amostras de sangue total de pacientes (n=15) e contatos menores de 16 anos de idade (n=69), residentes em São Gonçalo do Amarante, CE, foram coletadas para avaliar a presença de DNA de *M. leprae*. O DNA foi extraído utilizando o Kit Biopur Mini Spin Plus (Brasil), seguindo as recomendações do fabricante. qPCR foi realizada, utilizando primers específicos para RLEP (Invitrogen, EUA) e reagente PowerUp SYBR Green Master Mix (Thermo Scientific, EUA), conforme protocolo do fabricante. Curva de calibração foi construída, utilizando diluições seriadas na razão 10 do padrão. A amplificação foi realizada em termociclador Bio-Rad CFX96 e a análise dos dados no programa CFX Manager. **Resultados:** A curva de calibração mostrou uma eficiência de 86,5%, com  $R^2=0,987$ . A sensibilidade do teste foi de  $10E-4$  ng/ $\mu$ L de DNA de *M. leprae*, com Cycle Threshold (Ct) de 32, sendo este o cut-off. Todas as amostras de DNA extraídas de pacientes e contatos foram negativas. **Conclusão:** Há grande possibilidade do teste empregando-se Sybr Green não apresentar sensibilidade analítica adequada para a detecção de DNA de *M. leprae* em amostras de sangue. Protocolos alternativos serão testados.

**Palavras-chave:** PCR em tempo real. *Mycobacterium leprae*. Contatos. Sangue.