



Padronização da técnica da PCR em tempo real para diferentes tempos de infecção de *Angiostrongylus cantonesis*.

Carla Aristonara Müller¹, Ana Cristina Arámburu da Silva¹ (orientador)

¹Faculdade de Biociências, PUCRS

Resumo

Angiostrongylus cantonesis é um nematódeo pulmonar de ratos, originalmente descritos em *Rattus norvegicus*. Este parasito causa Meningite eosinofílica no homem, que é seu hospedeiro acidental, pela ingestão das larvas de terceiro estágio (L3). As L3, ao penetrarem a parede intestinal, caem na circulação sanguínea e migram até o SNC onde se desenvolvem as larvas de quinto estágio (L5). A patogenia depende diretamente dos danos causados pela movimentação das L5 e da reação inflamatória granulomatosa do indivíduo infectado. A aplicação das técnicas de biologia molecular em amostras de líquido é essencial para o diagnóstico desta parasitose, pois o homem não elimina nenhuma forma do parasito. Este estudo tem como objetivo padronizar a técnica da PCR em tempo real como método de diagnóstico utilizando diferentes tempos de infecção a partir do 28º dia. Foram infectados 4 grupos de 5 animais com 104 L3 e 2 animais como controle negativo. Os animais foram eutanasiados em diferentes tempos de infecção para obtenção de amostras de tecido cerebral, líquido e pulmões. Para a extração do DNA *A.cantonensis* presente nos pulmões e tecido cerebral foram utilizados o kit Dneasy Blood & Tissue Handbook e para o líquido utilizou-se o QIAamp DNA Micro Handbook, ambos Quiagen. A reação foi realizada em um volume final de 20 µL contendo Platinum qPCR Supermix com UDG e ROX, 0,2 µM cada oligonucleotídeo AcanITS1F1 (5'-TTCATGGATGGCGAACTGATAG-3') e AcanITS1R1 (5'-GCGCCCATTTGAAACATTATACTT-3'), e 0,05 µM de TaqMan AcanITS1P1 (5'-FAMATCGCATATCTACTATACGCATGTGACACCTG-BHQ-3'). As condições da reação foram: 1 ciclo de 50°C e 95°C por 2 minutos, 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C 1 minuto. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) com o

número 10/00174. Até a data de envio do resumo a etapa de análise dos dados não foi concluída.

Apoio: CNPq e CDC – Centers for Disease Control and Prevention Atlanta/EUA.