

## PADRONIZAÇÃO DA PCR COM DIFERENTES INICIADORES PARA CARACTERIZAÇÃO DE *Leishmania* spp.

DE ARAÚJO, Helton Krisman<sup>1</sup> (heltonkrisman@gmail.com); CASTRO, Silvana de Oliveira<sup>1</sup> (silvanadeocastro@gmail.com); GNUTZMANN, Laísa Vieira<sup>2</sup> (laisafarma@gmail.com); LIMA JUNIOR, Manoel Sebastião da Costa<sup>3</sup> (manoel.costa.lima@outlook.com); NEITZKE-ABREU, Herintha Coeto<sup>4</sup> (HerinthaAbreu@ufgd.edu.br)

<sup>1</sup>Discente do curso de Medicina da UFGD;

<sup>2</sup>Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFGD;

<sup>3</sup>Pesquisador da FIOCRUZ-PE;

<sup>4</sup>Docente da Faculdade de Ciências da Saúde da UFGD e coordenadora do projeto de pesquisa.

### INTRODUÇÃO

As leishmanioses possuem ampla distribuição mundial e são endêmicas em mais de 90 países. Existem dois tipos: a leishmaniose tegumentar (LT) e a visceral (LV).

O diagnóstico laboratorial constitui de exames parasitológicos, imunológicos e moleculares. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) vêm possibilitando a identificação mais precisa no reconhecimento da espécie. Assim, a presença de diferentes espécies de *Leishmania* requer o desenvolvimento de métodos de diagnóstico que possibilitem a detecção e identificação das espécies de *Leishmania* a fim de avaliar o prognóstico da infecção, a escolha da terapia apropriada e o conhecimento epidemiológico das leishmanioses.

O objetivo deste trabalho foi avaliar três pares de *primers* utilizados na PCR para detecção de *L. infantum*.

### METODOLOGIA

Foram analisados os *primers* FLC2/RLC2 (Gualda et al., 2015), RV1/RV2 (Ravel et al., 1995 adaptado por Fichoux et al., 1999) e LEISH1/LEISH2 (Francino et al., 2006). Foram utilizadas amostras de DNA de *L. infantum*, *L. amazonensis* e *L. braziliensis*. Inicialmente foi realizada uma curva de temperatura de anelamento de 52 a 62°C. Após a escolha da melhor temperatura de anelamento, foi utilizado uma curva de diluição (500pg/μL, 50pg/μL, 5pg/μL, 500fg/μL, 50fg/μL, 5fg/μL, 0,5fg/μL) de DNA das três espécies de *Leishmania* para analisar a sensibilidade dos *primers*. Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese em gel de agarose à 2%, sendo os resultados observados em transiluminador.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os *primers* FLC2/RLC2 detectaram somente *L. infantum* em todas as temperaturas analisadas.

Os *primers* RV1/RV2 amplificaram *L. infantum* e *L. amazonensis* em todas as temperaturas analisadas.

Os *primers* LEISH1/LEISH2 amplificaram as três espécies de *Leishmania* embora foi identificado algumas temperaturas que amplificaram apenas *L. infantum*.

Em relação a sensibilidade dos *primers*: FLC2/RLC2 detectou 10 fg de DNA de *L. infantum* (Figura 1); RV1/RV2 detectou 1 fg de DNA de *L. infantum* e 100 pg de DNA de *L. amazonensis*; LEISH1/LEISH2 detectou 1 fg de DNA de *L. infantum*, 100 fg de DNA de *L. amazonensis* e 10 fg de DNA de *L. braziliensis*.

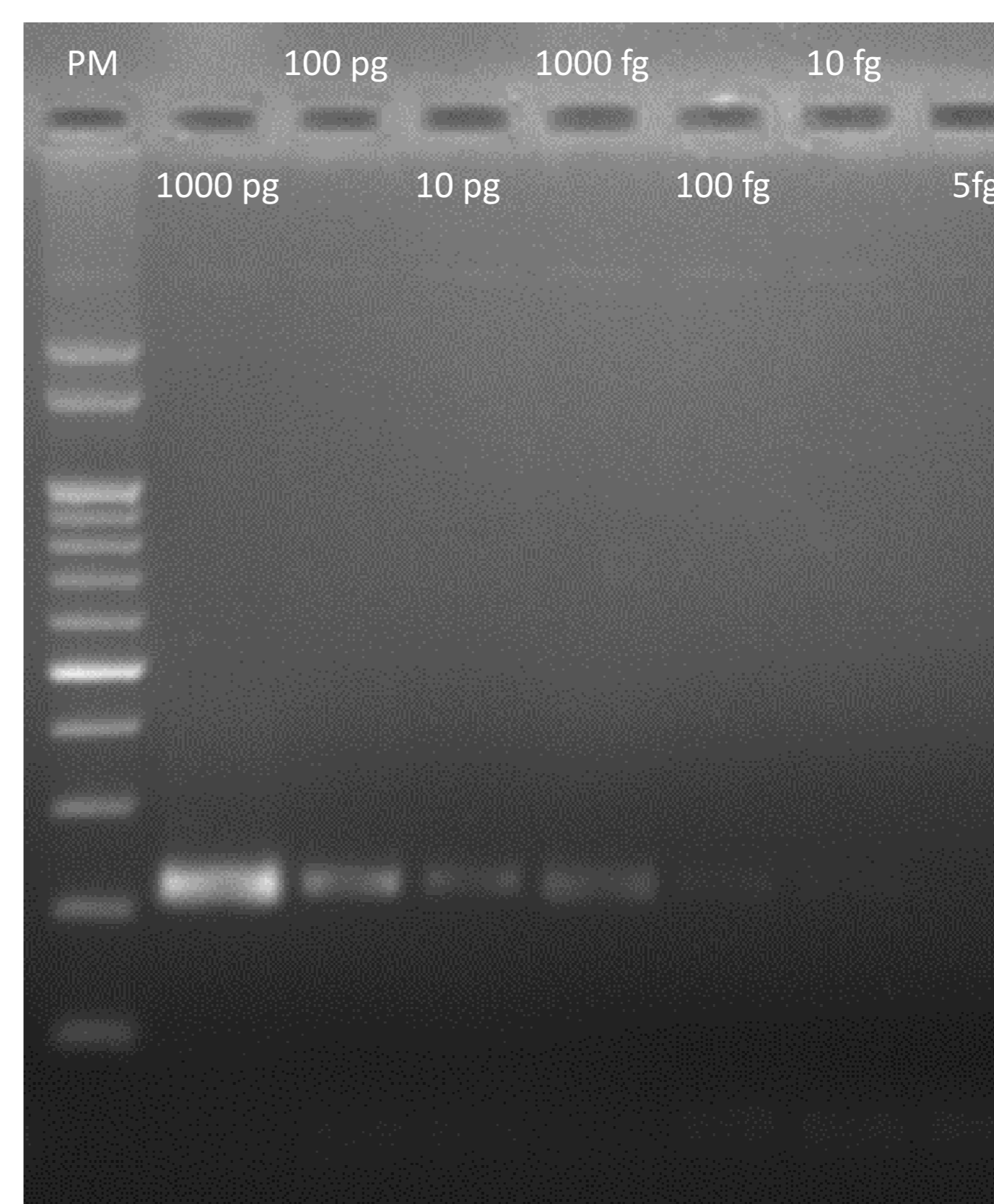


Figura 1: Sensibilidade dos *primers* FLC2/RLC2 para as diluições de DNA de *L. infantum*.

### CONCLUSÃO

A utilização da PCR com os *primers* FLC2-RLC2 é a mais indicada para caracterização da *L. infantum* principalmente em áreas onde há circulação de mais de uma espécie de *Leishmania*.

### BIBLIOGRAFIA

- 1.FICHOUX, YL; et al. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in área of endemicity in southern France. Journal of Clinical Microbiology, 37(6), 1953-7, 1999.
- 2.FRANCINO, O; et al. Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniosis. Veterinary Parasitology, 137: 214–21, 2006.
- 3.GUALDA, KP; et al. New primers for detection of *Leishmania infantum* using polymerase chain reaction. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 57(5): 377-83, 2015.
- 4.RAVEL, S; et al. A highly sensitive and rapid procedure for direct PCR detection of *Leishmania infantum* within human peripheral blood mononuclear cells. Acta Tropica, 59: 187-96, 1995.

Apoio  
financeiro

**UFGD**  
Universidade Federal  
da Grande Dourados

**Fundect**

**CNPq**

Realização:

**UFGD**  
Universidade Federal  
da Grande Dourados

**UEMS**  
Universidade Estadual  
de Mato Grosso do Sul

Parceiros:

**CAPES**

**CNPq**  
Conselho Nacional de Desenvolvimento  
Científico e Tecnológico

