

REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE NO DIAGNÓSTICO DE *LEISHMANIA* EM PACIENTES COM SUSPEITA DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

OLIVEIRA, Jacqueline Marcely¹ (jacque_marcely@hotmail.com); **VIEIRA, Victor Bruno Duarte**² (victor.bruno.vieira@hotmail.com); **SILVEIRA, Ana Paula Stefanello**² (anapaulastefanello@hotmail.com); **NEGRÃO, Fábio Juliano**³ (FabioNegrao@ufgd.edu.br); **COSTA LIMA JUNIOR, Manoel Sebastião**⁴ (manoel.costa.lima@outlook.com); **NEITZKE-ABREU, Herintha Coeto**³ (HerinthaAbreu@ufgd.edu.br).

¹ Discente do curso de Medicina da UFGD – Dourados; CNPq-PIBIC;

² Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFGD – Dourados;

³ Docente da Faculdade de Ciências da Saúde da UFGD – Dourados;

⁴ Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães Fiocruz – Pernambuco.

As leishmanioses são zoonoses endêmicas em Mato Grosso do Sul e têm por agentes etiológicos nessa região *Leishmania (Leishmania) chagasi*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Em vista disso, o objetivo do estudo foi investigar os aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar (LT) em pacientes atendidos pelo Hospital Universitário da Universidade da Grande Dourados (HU/UFGD) no período de oito meses (agosto de 2015 – março de 2016) e padronizar técnicas de obtenção de DNA e PCR (Reação da Cadeia da Polimerase) a partir de sangue total. Foi realizada a padronização de duas técnicas de obtenção de DNA: SDS (dodecil sulfato de sódio) e GT (guanidina-fenol). A extração do DNA foi obtida a partir de 30 amostras de sangue de cão, sendo incluídos para cada extração, controles positivos (sangue de indivíduo sem LT acrescido de promastigotas de *Leishmania sp.*) e negativos de amplificação (sangue de indivíduos sem LT). Ainda, foi realizada a padronização de dois pares de iniciadores que amplificam regiões específicas de diferentes espécies de *Leishmania* (13A/13B e L5.8S/LITSR) utilizando DNA de *L. (V.) braziliensis*, *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) infantum* mantidas em cultura. Por fim, foi padronizada a PCR para detecção de presença de inibidores utilizando oligonucleotídeos específicos para o gene da β -globina humana (GH20/PC04) e para o gene da β -actina canina (ACTINFOR e ACTINREV). Em cada amplificação foram incluídos controles positivos (DNA de *Leishmania sp.*) e negativos (água). O produto de amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose corado por brometo de etídeo. A presença de bandas foi verificada em transiluminador. Não foram obtidas amostras de pacientes com suspeita de LT no HU/UFGD. O estudo mostrou que a técnica de obtenção de DNA por SDS foi mais eficaz com um melhor rendimento do DNA. Todas as amostras de cultura de *Leishmania* apresentaram resultado positivo utilizando os iniciadores 13A/13B e L5.8S/LITSR. A PCR para controle interno de amplificação para detecção de presença de inibidores em amostras de sangue humano foi positiva em todas as 10 amostras testadas. E a PCR para controle interno em amostras de sangue de cão foi positiva em todas as 30 amostras testadas. Concluímos que a técnica de extração por SDS mostrou-se mais eficaz na obtenção de DNA; os iniciadores LITSR/L5.8S e 13A/13B para pesquisa de *Leishmania* devem ser testados em amostras clínicas para diagnóstico das leishmanioses; e as PCR utilizando iniciadores para detecção de DNA de cão e humano apresentaram bom resultado, podendo ser utilizados para controle interno da reação de PCR.

Palavras-chave: Leishmaniose tegumentar. Reação em Cadeia da Polimerase. Epidemiologia.

Agradecimentos: Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC pela concessão de bolsa de iniciação científica e à FUNDECT pelo apoio financeiro.