

PADRONIZAÇÃO DA PCR COM DIFERENTES INICIADORES PARA CARACTERIZAÇÃO DE LEISHMANIA SPP

Helton Krisman De Araújo (heltonkrisman@gmail.com)

Silvana De Oliveira Castro (silvanadeocastro@gmail.com)

Laísa Vieira Gnutzmann (laisafarma@gmail.com)

Manoel Sebastião Costa Lima Junior (manoel.costa.lima@outlook.com)

Herintha Coeto Neitzke Abreu (herinthaabreu@ufgd.edu.br)

As leishmanioses são doenças parasitárias que acometem o homem e os animais domésticos e silvestres. Existem dois tipos de manifestações destas doenças: a leishmaniose visceral (LV) e a leishmaniose tegumentar (LT). A identificação do parasito pode ser realizada por diversas técnicas, com destaque para a Reação de Cadeia da Polimerase (PCR) devido sua alta sensibilidade e especificidade. Nesta técnica são utilizados diferentes primers para a detecção do agente etiológico, o que interfere na eficácia da técnica. O objetivo deste trabalho foi avaliar a precisão de três pares de primers utilizados na PCR para detecção de *Leishmania infantum*. Para isso foram utilizados os primers FLC2/RLC2, RV1/RV2 e LEISH1/LEISH2 e 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 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. Embora a literatura descreva que estes três pares de primers são específicos para a detecção de *L. infantum*, RV1/RV2 amplificou *L. infantum* e *L. amazonensis* em todas as temperaturas analisadas; LEISH1/LEISH2 amplificou as três espécies de *Leishmania* embora foi identificado algumas temperaturas que amplificaram apenas *L. infantum*; FLC2/RLC2 detectou somente *L. infantum* em todas as temperaturas analisadas. Em relação a sensibilidade dos primers: FLC2/RLC2 detectou 10fg de DNA de *L. infantum*; RV1/RV2 detectou 1fg de DNA de *L. infantum* e 100pg de DNA de *L. amazonensis*; LEISH1/LEISH2 detectou 1fg de DNA de *L. infantum*, 100fg de DNA de *L. amazonensis* e 10fg de DNA de *L. braziliensis*. Concluímos que 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*.