



PADRONIZAÇÃO DA PCR EM TEMPO REAL PARA QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE LEISHMANIA

NALINE SILVA JAQUES (Autor), GEORGE LUIZ LINS MACHADO COELHO (Orientador), VALESKA NATIELY VIANNA (Autor), ANA MARIA SAMPAIO ROCHA (Autor), Erica Maria de Queiroz (Autor)

A leishmaniose visceral (LV) é causada por parasitos do Gênero *Leishmania*. Minas Gerais apresenta prevalência de 3,9% em Belo Horizonte e de 3,4-10,5% no Norte de Minas Gerais. Os exames laboratoriais para o diagnóstico de Leishmaniose Visceral Canina incluem parasitológicos, imunológicos e moleculares, embora nenhum apresente 100% de sensibilidade e especificidade. O objetivo deste trabalho foi padronizar a PCR em tempo real (qPCR) para quantificar e identificar a espécie de *Leishmania* em amostras de sangue dessecado em papel de filtro (SDPF) de cães da terra indígena Xakriabá (TIX) coletados em 2011. A reação da qPCR e condições de ciclagem foram conforme indicações do Master mix SYBER Green (LifeTechnologies) em 7500 Fast (Applied Biosystems). Para estabelecer a curva padrão dos controles (*Leishmania amazonensis*, *L. chagasi*, *L. brasiliense* e *L. guianenses*), foram testados 10 pontos de diluição, sendo os melhores resultados entre 200pg-20fg. As amostras SDPF foram diluídas para 3 pontos de diluição (2ng-20pg). Após a padronização da qPCR, nós triamos 50 amostras SDPF. Entretanto, a intensidade de amplificação não foi satisfatória. Isto pode ter ocorrido devido a inibição da amplificação na qPCR por impurezas do processo de extração de DNA. Como não dispúnhamos de mais sangue para nova extração, nós utilizamos o kit Wizard Genomic DNA Purification System (Promega) para purificar os produtos da extração de DNA das 950 amostras de SDPF. Resultados preliminares indicaram melhora na amplificação das amostras. Paralelamente, nós confirmamos o diagnóstico de 24 amostras de baço de cães necropsiados com diagnóstico sorológico positivo (ELISA positivo e IFI confirmatório, conforme Ministério da Saúde em 2011) provenientes da TIX através da qPCR. Assim, a padronização da qPCR para o diagnóstico de *Leishmania* se mostrou eficiente para amostras de baço e SDPF após ajustes. Por ser a qPCR de custo elevado, esta é indicada como teste confirmatório.

Instituição de Ensino: Universidade Federal de Ouro Preto