

## Diagnóstico etiológico da leishmaniose visceral no Pará, Brasil

<sup>1</sup>Lucas G. Assunção; <sup>1</sup>Luciana C. S. Nascimento; <sup>1</sup>Breno M. Resende;  
<sup>1</sup>Evonnildo C. Gonçalves; <sup>1,2</sup>Lourdes M. Garcez

<sup>1</sup>Instituto Evandro Chagas, SVS/MS. Br 316, Km 07 s/n, Levilândia - 67.030-000, Ananindeua, PA, Brasil. Laboratório EpiLeish: <lourdesgarcez@iec.pa.gov.br>; <sup>2</sup>UEPA. Rua Perebebuí, 2623, Marco - 66087-670, Belém, PA, Brasil

A *L. (L.) infantum* é o único agente de leishmaniose visceral (LV) nas Américas. A LV é endêmica no Pará, onde a leishmaniose tegumentar (LT) também é muito incidente. Sete espécies de *Leishmania*, subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, causam LT no Pará. A acurácia do diagnóstico molecular varia com a carga parasitária e especificidade dos marcadores. Dada a diversidade de *Leishmania* e o risco de visceralização por espécies normalmente dermatrópicas, sobretudo em imunodeprimidos, a avaliação de marcadores moleculares para o diagnóstico etiológico da LV no Pará é necessária. O objetivo foi avaliar o marcador Hsp70-234 para diagnóstico etiológico da LV pela PCR. Amostras de DNA extraído de promastigotas de *Leishmania* previamente isoladas da medula óssea de 13 pacientes com LV foram analisadas. Os controles foram *L. (L.) infantum* (MCER/BR/1981/M6445) e *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8). Investigou-se a concentração mínima de DNA detectável pela PCR-Hsp70-234. A análise do DNA genômico em gel de agarose a 2% e no equipamento Nanodrop 2000 atestou a qualidade das amostras. Todas foram quantificadas no equipamento Qubit 2.0 e suas concentrações ajustadas para 10 ng/μL, 1 ng/μL e 0,1 ng/μL. A PCR-RFLP Hsp70-234, com a enzima de restrição Hae III, foi usada para a distinção de espécies (Graça et al. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 107; 5: 664-674, 2012). Os produtos digeridos foram submetidos à eletroforese de alto desempenho em gel de poliacrilamida. A PCR da região Hsp70-234 foi sensível às três concentrações de DNA e a PCR-RFLP HAE III de Hsp70-234 diferenciou *L. (L.) infantum* de *L. (L.) amazonensis*. Amostras de DNA extraídas dos isolados de *Leishmania* obtidos a partir da medula óssea de pacientes com LV tiveram perfis distintos daquele de *L. (L.) amazonensis* e similares ao de *L. (L.) infantum*, confirmando infecção dos pacientes por essa última espécie. O poder discriminatório do Hsp70-234 em relação a outras espécies amazônicas de *Leishmania* necessita ainda ser avaliado.

**Palavras-Chave:** Leishmaniose visceral, diagnóstico, Hsp70-234

**Apoio:** PIBIC-IEC/CNPq