Diferenciação de espécies de *Leishmania* pertencentes ao mesmo subgênero (*Viannia*) por PCR em tempo real

Rayana C. S. de Moraes¹; Tayná C. de Goes^{1,2}; Cíntia N. da Costa-Oliveira¹; Maria E. F. Brito¹; Sinval P. Brandão-Filho¹; Milena de Paiva-Cavalcanti¹

¹Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Av. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco. Email: mp@cpqam.fiocruz.br. ²Centro Universitário Maurício de Nassau, R. Guilherme Pinto, 114 - Graças, Recife, Pernambuco

As espécies de *Leishmania* causadoras das leishmanioses são divididas em dois subgêneros, *Leishmania* e *Viannia*, e agrupadas em complexos. O complexo *Leishmania braziliensis* é composto por *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) panamensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) peruviana* e *Leishmania (Viannia) shawi*, que causam a leishmaniose tegumentar nas Américas (LTA). A espécie de *Leishmania* juntamente com o estado imunológico do indivíduo acometido implica em diferentes manifestações clínicas da doença, que variam de formas localizada e benigna até lesões mucocutâneas e resistentes. Diante da importância clínico-epidemiológica e da dificuldade de identificar a espécie do parasito, objetivou-se fazer distinção entre *L. braziliensis*, *L. guyanensis* e *L. shawi* através do tamanho do produto da PCR em tempo real (qPCR) desenvolvida pela equipe. Previamente, através de sequências obtidas no Genbank para o *Internal Transcriber Spacer 1*, foi desenhado um sistema de qPCR (*TaqMan probe*) específico para o subgênero *Viannia*. Em análise *in silico* dos primers, notou-se que os produtos de *L. braziliensis*, *L. guyanensis* e *L. shawi* apresentaram número de pares de bases (pb) diferentes. Com a finalidade de verificar o comportamento dessa distinção de tamanho, foi realizado eletroforese em gel de agarose à 4% corado com brometo de etídio. Na análise *in silico* obteve-se que o produto de *L. braziliensis* contém 103 pb; *L. guyanensis* 105 pb; e *L. shawi* 107 pb; esta análise foi confirmada através da eletroforese. Este resultado trás grande perspectiva, visto que para tipagem de *Leishmania* é necessário cultivo celular para realização da *Multilocus Enzyme Electrophoresis*; ou clivagem do produto de PCR por enzimas de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), ambas são técnicas laboriosas, quando comparadas as vantagens e praticidade da qPCR.

Palavras-chave: Leishmania, qPCR, eletroforese

Apoio: CAPES, FACEPE, CNPq, CPqAM/FIOCRUZ-PE