

## Identificação de espécies de *Leishmania* usando novos *primers* para minicírculo do kDNA

Carolina C. Conter<sup>1</sup>; Maria Valdrinez C. Lonardoni<sup>2</sup>; Sandra M. A. Aristides<sup>2</sup>; Rosilene F. Cardoso<sup>2</sup>; Thaís G. V. Silveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá (UEM), 8702-900 Maringá, PR, Brasil. Email:carolcconter@gmail.com. <sup>2</sup>Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, (UEM), 8702-900 Maringá, PR, Brasil.

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem sido útil no diagnóstico e identificação de espécies de *Leishmania*. O minicírculo do cinetoplasto (kDNA) permite o desenho de *primers* específicos com alta sensibilidade. O objetivo foi desenhar *primers* específicos para detecção de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e *Leishmania (Leishmania) chagasi*, por PCR. Quatro *primers* foram desenhados com base nas sequências do minicírculo do kDNA usando sequências do GenBank. O PCR com os *primers* LSPF/LVBR com produto de amplificação de 127pb foi específico para as cepas de referência *L. braziliensis* (MHOM/BR/2003/2311, MHOM/BR/2003/2314, MHOM/BR/2009/3476, MHOM/BR/2000/1655, MHOM/BR/1987/M11272); *Leishmania (Viannia) guyanensis* (MHOM/BR/1975/M4147); LSPF/LLAR (100pb) foi específico para *L. amazonensis* (IFLA/BR/1967/PH8, WHOM/BR/75/JOSEFA) e não amplificou *Leishmania (Leishmania) mexicana* (MHOM/BZ/1982/BEL21) e LSPF/LLCR (60pb) foi específico para *Leishmania (Leishmania) infantum* (MHOM/BR/2002/LPC-RPV, MHOM/BR/1974/PP75); *Leishmania (Leishmania) major* (MHOM/SU/1973/5-ASKH, MHOM/IL/1980/FRIEDLIN); *Leishmania (Leishmania) donovani* (MHOM/ET/1967/HU3). A sensibilidade do *primer* para *L. braziliensis* foi 20fg, 20pg para o *primer* de *L. amazonensis* e de 2pg para *L. infantum*. Em relação a detecção em diferentes amostras de DNA, o *primer* LSPF/LVBR detectou *L. braziliensis* em flebotomíneos naturalmente infectados e lesão de pacientes com leishmaniose cutânea; LSPF/LLAR detectou *L. amazonensis* em medula de cão com leishmaniose; e LSPF/LLCR detectou a espécie de *L. infantum* em sangue de paciente com leishmaniose visceral. Os *primers* desenvolvidos mostraram alta sensibilidade e capacidade de identificação das espécies de *Leishmania* em diferentes amostras biológicas, podendo ser uma ferramenta útil no diagnóstico e na determinação da distribuição geográfica das espécies de *Leishmania*.

**Palavras-chave:** *primer*, *Leishmania*, PCR.

**Apoio:** Capes.Fundação Araucária