

## Otimização do alvo *tpr* para diagnóstico molecular da neurosífilis em pacientes vivendo com HIV

**Patrícia Maria S. de Oliveira<sup>1</sup>, Walter L. Barbosa Júnior<sup>1</sup>, Elis D. da Silva<sup>1</sup>, Neuza S. Sato<sup>3</sup>, Ana Emília C. A. de Aquino<sup>2</sup>, Alex Maurício G. Santos<sup>2</sup>, Paulo Sérgio R. de Araújo<sup>1,2</sup>, Heloísa R. L. de Melo<sup>2</sup>, Fábio L. de Melo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fiocruz-PE-Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária – Recife/PE . CEP 50.740-465. <sup>2</sup> Universidade Federal de Pernambuco- Av. Prof. Moraes Rego, 1235-Cidade Universitária, Recife-PE- CEP:50670-901. <sup>3</sup> Instituto Adolfo Lutz-Av. Dr. Arnaldo, 355 - São Paulo - CEP 01246-000

A neurosífilis no paciente vivendo com HIV é de difícil diagnóstico, uma vez que nesses pacientes há sobreposição de sintomas, baixa carga infecciosa e baixos títulos de anticorpos. Apesar disso, os testes sorológicos são ferramentas de escolha para diagnóstico da neurosífilis. No caso de pessoas com imunodeficiência, testes de identificação direta dos patógenos permitem um diagnóstico mais confiável. A PCR para detecção direta do *T. pallidum* apresenta a vantagem de não depender da resposta imune e permitir a identificação de subespécies de *T. pallidum*. O objetivo do trabalho foi otimizar o sistema *tpr* (alelos E, J e G) aplicado para diagnóstico e subtipagem do *T. pallidum*. Os *primers* IP6 e IP7 foram desenhados a partir de uma região de DNA, denominada *tpr* que codifica proteínas de superfície celular. A amplificação foi realizada de acordo com as seguintes condições - desnaturação inicial de 95°C por 15 min e 40 ciclos: 94°C por 1 min, 55°C por 1 min e 72°C por 1 min 45seg e extensão final de 72°C por 10 min. O volume final foi 20µL para cada reação. As concentrações dos *primers* foram de 10 pmols. A sensibilidade da técnica foi avaliada utilizando uma curva de diluição de fator 10 a partir de quantidades conhecidas de DNA plasmidial, nas concentrações entre 1,0 ng e 10,0 ag. Os melhores resultados foram obtidos para o gene *tpr* alelo E, que apresentou limiar de detecção de 100 ag, enquanto que os alelos G e J apresentaram desempenho inferior, limite de detecção de 1pg. Considerando que amostras de LCR possuem quantidade reduzida de DNA de *T.*

*pallidum*, o alelo E pode ser utilizado como alvo de escolha para identificação de *T. pallidum*, assim, são necessários estudos em amostras de LCR para que haja a confirmação do desempenho e aplicabilidade da técnica, juntamente com a otimização dos demais sistemas dos alelos do gene *tpv* deste estudo

**Palavras-Chaves:** Neurosífilis; diagnóstico; otimização