

AVALIAÇÃO da sensibilidade dos ensaios de pcr dirigidos para marcadores moleculares em misturas artificiais de diferentes POPULAÇÕES do *trypanosoma cruzi*

Kênia T. Pereira^{1*}, Ítalo F. Valle², Andréa M. Macedo², Nayara D. A. Bortoleto¹, Helder M. S. Valadares¹

¹Laboratório de Genética Molecular, Campus Centro Oeste Dona Lindu, Universidade Federal de São João Del-Rei, Divinópolis/MG

²Laboratório de Genética Bioquímica, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG

*e-mail: keniataassia@live.com

Resumo

A doença de Chagas é uma doença causada pelo parasito *Trypanosoma cruzi* que afeta cerca de 10 milhões de indivíduos na América Latina. Inúmeros estudos biológicos e moleculares revelaram uma grande variabilidade genética entre as cepas do *T. cruzi*, as quais foram divididas em seis Unidades Taxonômicas Discretas (DTUs) chamadas de *T. cruzi* I a *T. cruzi* VI. Pacientes chagásicos em áreas endêmicas podem ser infectados por múltiplos contatos com diferentes triatomíneos, e estes, por sua vez, podem se alimentar de diferentes indivíduos infectados propiciando a formação de populações multiclonais em hospedeiros e vetores. Uma vez que a identificação de populações multiclonais nos hospedeiros depende primariamente da sensibilidade dos ensaios de PCR, o objetivo deste trabalho foi investigar o grau de sensibilidade dos ensaios de PCR para diferentes marcadores moleculares, utilizando misturas artificiais de DNA obtido de cepas do *T. cruzi* pertencentes a diferentes linhagens filogenéticas. Assim, inicialmente, foram produzidas 27 misturas artificiais contendo DNA de Sílvia X10 cl1 (TcI) e CL Brener (TcVI), em percentuais que variaram de 99,9% Sílvia/0,1% CL Brener a 0,1% Sílvia/99,9% CL Brener e submetidas a ensaios de PCR para os marcadores rDNA 24Sα e Citocromo Oxidase II (COII). Resultados preliminares indicaram que houve uma maior sensibilidade para a detecção do DNA do *T. cruzi* I em comparação a *T. cruzi* VI utilizando o marcador rDNA 24Sα e que sua

sensibilidade na PCR foi aproximadamente 16 vezes maior em relação ao COII. Os limites de detecção encontrados para rDNA 24S α e COII foram 0,5 e 8% para Sílvia e 2 e 8% para CL Brener, respectivamente. Para confirmar estes resultados, experimentos adicionais serão realizados empregando outros marcadores e novas combinações de DNA de cepas do *T. cruzi* de diferentes linhagens filogenéticas.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, variabilidade genética, sensibilidade da PCR, marcadores moleculares.

Apoio financeiro: CNPq, FAPEMIG.