



MÉTODO DE DIAGNÓSTICO POR AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP PARA DETECÇÃO DE LEISHMANIOSE EM FLEBOTOMÍNEOS

Alesson Gabriel dos Santos¹ (PROVIC-Unit), e-mail:

alesson.gabriel12@gmail.com;

Érico Rafael Barros de Gusmão Verçosa¹ (PROVIC-Unit), e-mail:

erico.rafaelbarros@hotmail.com

João Vithor Leão Sampaio¹ (Pesquisador Voluntário), e-mail:

vithorsampaio@gmail.com

Wendell Alexandre Pinheiro de Almeida¹ (Pesquisador Voluntário), e-mail:

wendell.alexandre@souunit.com.br

Ronaldo Gomes Alvim¹ (Orientador), e-mail: alvimrg@yahoo.com

Jaim Simões de Oliveira¹ (Co-orientador), e-mail: jaimsimoes@hotmail.com

Centro Universitário Tiradentes¹/Biomedicina/Alagoas, AL.

2.00.00.00-6 Ciências Biológicas - 2.02.00.00-5 Genética - 2.02.02.00-8 Genética Molecular e de Microorganismos

RESUMO: Introdução: A leishmaniose é uma doença parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*. Mais de 350 milhões de pessoas residem em áreas de risco, e a cada ano surgem aproximadamente 2 milhões de novos casos, com mais de 40.000 mortes em todo mundo. Apesar de apresentar uma alta incidência anual de casos, continua sendo classificada como uma doença tropical negligenciada, distribuída especialmente em áreas tropicais e subtropicais, tendo fortes e complexas associações com a pobreza. A amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) é uma técnica que utiliza uma única temperatura para amplificação DNA, sem necessidade de termociclador. Sendo simples de usar, o LAMP apresenta alta sensibilidade, rapidez, baixo custo e fácil reprodutibilidade, proporcionando uma exibição visual de fácil interpretação. **Objetivos:** O presente trabalho tem como objetivo avaliar a aplicabilidade da técnica de LAMP na detecção da Leishmaniose nos insetos vetores, hospedeiros e em amostras clínicas de pacientes. **Material e Métodos:** Essa revisão bibliográfica foi realizada através da pesquisa nas base de dado PUBMED. Os descritores utilizados para a coleta de artigos foram “Loop-mediated isothermal amplification” e *Leishmania*. Após leitura dos títulos e resumos dos artigos, foram excluídos artigos de acordo com os critérios a seguir: artigos repetidos; artigos que aplicavam outras técnicas moleculares como PCR, artigos que utilizaram a LAMP para a detecção de outros organismos. Essa seleção resultou num total de 28 artigos, que foram utilizados para análise. **Resultados e Conclusão:** O método de LAMP foi utilizado com sucesso para a detecção de *Leishmania* sp. em flebotomíneos. Os alvos utilizados foram a região altamente conservada do gene 18S rRNA, sendo capaz de detectar as variadas concentrações testadas. Foi observado que o método desenvolvido pode ser utilizado para a amplificação de DNA



utilizando-se o extrato bruto dos vetores coletados, apresentando uma alta sensibilidade de detecção. Uma das características mais significativas do ensaio recém-desenvolvido para a técnica de LAMP, é que ele tem uma grande vantagem na detecção de amplicons em relação PCR convencional, possibilitando a visualização do produto a olho nu. Assim, a simplificação é absolutamente fundamental para levar os diagnósticos às configurações do ponto de atendimento. A identificação e o monitoramento da taxa de infecção natural por *Leishmania* em flebotomíneos são indicadores epidemiológicos essenciais para a estimativa do risco de transmissão, taxa de prevalência da doença e intensidade de transmissão de flebotomíneos infectados. O método de detecção pode ser realizado em um sistema fechado, sem necessidade da abertura de tubos de reação ou manuseio pós-amplificação, fase com altas chances de contaminação sendo completamente evitada. A utilização do corante facilita muito a interpretação dos resultados, pois é altamente discernível e consistente. Como o mesmo é barato e pode ser armazenado à temperatura ambiente, esse corante pode aumentar tremendamente a aplicabilidade no campo. Essa abordagem promissora também poderia ser explorada em saúde pública veterinária para o diagnóstico da leishmaniose canina. O LAMP, portanto, é um método simplificado de amplificação de detecção de fragmentos que podem complementar as ferramentas de vigilância disponíveis e gerar informações sobre a distribuição ou expansão da doença.

Palavras-chave: Diagnóstico, LAMP, Leishmaniose.

ABSTRACT: Introduction: Leishmaniasis is a parasitic disease caused by protozoa of the genus *Leishmania*. More than 350 million people live in at-risk areas, with an estimated 2 million new cases each year, with more than 40,000 deaths worldwide. Despite presenting a high annual incidence of cases, it continues to be classified as a neglected tropical disease, distributed especially in tropical and subtropical areas, having strong and complex associations with poverty. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is a technique that uses a single temperature for DNA amplification, without the need for a thermocycler. Being simple to use, LAMP features high sensitivity, fast, low cost and easy reproducibility, providing a visual display for easy interpretation. **Objectives:** The present work aims to evaluate the applicability of the LAMP technique in the detection of Leishmaniasis in vector insects, hosts and clinical samples of patients. **Material and Methods:** This bibliographic review was carried out by searching the PUBMED database. The descriptors used for the collection of articles were "Loop-mediated isothermal amplification" and *Leishmania*. After reading the titles and abstracts of articles, articles were excluded according to the following criteria: repeated articles; articles that applied other molecular techniques such as PCR, articles that used the LAMP for the detection of other organisms. This selection resulted in a total of 28 articles, which were used for analysis. **Results and Conclusion:** The LAMP method was successfully used for the detection of *Leishmania* sp. in sandflies. The targets used were the highly conserved region of the 18S rRNA gene,



being able to detect the varied concentrations tested. It was observed that the method developed can be used for DNA amplification using the crude extract of the vectors collected, presenting a high detection sensitivity. One of the most significant features of the newly developed LAMP assay is that it has a great advantage in the detection of amplicons in relation to conventional PCR, allowing visualization of the product with the naked eye. Thus, simplification is absolutely essential to bring the diagnostics to the point of service settings. Identification and monitoring of the natural infection rate by *Leishmania* in sand flies are essential epidemiological indicators for the estimation of transmission risk, disease prevalence rate and transmission intensity of infected sandflies. The detection method can be performed in a closed system, without the need to open reaction tubes or post-amplification handling, phase with high chances of contamination being completely avoided. The use of the dye greatly facilitates the interpretation of results, as it is highly discernible and consistent. As it is inexpensive and can be stored at room temperature, this dye can tremendously increase applicability in the field. This promising approach could also be explored in veterinary public health for the diagnosis of canine leishmaniasis. LAMP is therefore a simplified method of amplification fragment detection that can complement the available surveillance tools and generate information on the distribution or spread of the disease.

Keywords: Diagnosis, LAMP, Leishmaniasis.

Referências/references: