

**Validação da técnica de Nested-PCR para detecção de *Plasmodium sp.* em área endêmica do estado do Pará.**

SILVA, M. R.<sup>1</sup>; SILVEIRA, N. N.<sup>2</sup>; CARDOSO, E. L.<sup>1</sup>; FEITOSA, J. M.<sup>1</sup>; GOMES, J. S.<sup>1</sup>; PEREIRA, M. P.<sup>1</sup>

1. Instituto XXXXXXXX – Belém – Pará.
2. Universidade XXXXXXXX – Macapá – Amapá.

[xxxxxxxxx@xxxx.com](mailto:xxxxxxxxx@xxxx.com) (endereço eletrônico do autor para contato)

A Gota Espessa (GE) é o método de escolha para o diagnóstico laboratorial da malária em áreas endêmicas. Porém, a identificação correta dos plasmódios e o nível de detecção pela microscopia dependem de alguns fatores, como a experiência do microscopista. Para superar algumas destas limitações, métodos baseados na Reação em Cadeia Mediada pela Polimerase (PCR) têm sido desenvolvidos. Este estudo teve como objetivo validar a técnica de Nested-PCR para detecção de *Plasmodium falciparum*, *P. malariae* e *P. vivax* em amostras de indivíduos provenientes do município de Tucuruí (Pará) e comparar os resultados obtidos pelo Nested-PCR com os da GE corada pelo método de Walker. Neste estudo, foram coletadas no ano de XXXX, XXX amostras de sangue total para impregnação em papel de filtro Whatman® de 2,5 cm de diâmetro (Titertek, ICN Biomedicals – England) e confecção, em triplicata, de lâminas de GE de residentes do município de Tucuruí (Pará) que aceitaram participar do estudo, além de controles positivos para os plasmódios humanos e água destilada estéril e DNA humano como negativos. As amostras em papel de filtro foram lavadas e submetidas ao Nested-PCR para amplificação da subunidade pequena do gene 18S do RNA ribossômico (ssurRNA) de *Plasmodium*, segundo protocolo de Kimura et. al. (1997). A visualização das amostras foi feita em gel de agarose a 2% e coloração em brometo de etídio (5 µL/mL), produzindo *amplicon* de 110 pb nas positivas. Das XXX amostras testadas (parasitemia de 0,001 a 2,00%), XX,XX% (XX/XXX) foram positivas e XX,XX% (XX/XXX) negativas. A GE detectou XX,XX% (XX/XXX) amostras positivas e XX,XX% (XX/XXX) negativas. Os parâmetros estatísticos obtidos pela Nested-PCR em relação à GE foram: sensibilidade = XX,XX%, especificidade = XX,XX%, falso-positivo = XX,XX%, falso-negativo = XX,XX% e acurácia = XX,XX%. O Nested-PCR detectou ainda XX,XX% (XX/XXX) infecções mistas, sendo XX,XX% (XX/XXX) com o perfil de *P. falciparum* + *P. vivax* e XX,XX% (XX/XXX) devido *P. vivax* + *P. malariae*, que não foram detectadas pela GE ( $p < 0,05$ ). Portanto, o protocolo de Nested-PCR utilizado apresentou sensibilidade e especificidade elevadas e reprodutibilidade satisfatória podendo, assim, ser utilizado como método alternativo e complementar de diagnóstico laboratorial para malária humana.

Apoio: XXXXXXXXXXXXXXXX.