

RESUMEN

Autor [Silva Molina, J.I.](#)
Autor corporativo [Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima \(Peru\). Facultad de Ciencias](#)
Título **Identificación de las especies del género Leishmania mediante marcadores moleculares de alta sensibilidad a partir de láminas coloreadas con Giemsa empleando la técnica PCR-High Resolution Melting (HRM)**
Impreso Lima : UNALM, 2018

Copias

Ubicación	Código	Estado
Sala Tesis	L10. S5 - T	EN PROCESO
Descripción	70 p. : 12 fig., 21 tablas, 61 ref. Incluye CD ROM	
Tesis	Tesis (Biólogo)	
Bibliografía	Facultad : Ciencias	
Sumario	Sumarios (En, Es)	
Materia	LEISHMANIA MARCADORES GENETICOS IDENTIFICACION SECUENCIA DE ADN MAPAS GENETICOS ANALISIS DE DATOS PERU MARCADORES MOLECULARES LAMINAS COLOREADAS CON GIEMSA TECNICA PCR-HIGH RESOLUTION MELTING (HRM)	
Nº estándar	PE2019000086 B / M EUVZ L10	

La leishmaniasis es una enfermedad causada por el protozoo del género *Leishmania*, que se transmite a los humanos por la picadura de flebotomos infectados. El Perú reportó un promedio de 7000 casos de leishmaniasis cutánea y 430 de leishmaniasis cutáneo-mucosa en el 2016. Las principales especies infectantes del género *Leishmania* son *Leishmania (Viannia) braziliensis*, causante del 98% de los casos de leishmaniasis mucosa y cutáneo-mucosa; *Leishmania (V.) peruviana*, causante de la leishmaniasis cutánea y en menor proporción *Leishmania (V.) guyanensis*, *Leishmania (V.) lainsoni*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* y *Leishmania (V.) shawi*. La diversidad de especies del género *Leishmania* y su amplia distribución en el territorio peruano requieren la búsqueda de métodos que permitan identificar las especies de forma sencilla, reproducible y eficiente. En la investigación se realizó el análisis por PCR-High Resolution Melting (HRM) para cuatro marcadores moleculares, la región conservada del minicírculo, ITS-1, hsp70 y cyt b en 243 láminas coloreadas con Giemsa de los años 2010-2013 procedentes de pacientes con lesiones cutáneas. El análisis de genotipificación identificó las especies de *Leishmania (V.) peruviana*, *Leishmania (V.) braziliensis*, *Leishmania (V.) guyanensis*, *Leishmania (V.) lainsoni*, *Leishmania (L.) amazonensis*, cuya sensibilidad de técnica fue 93.00%. Además, el análisis de las curvas de disociación o HRMA permitió la identificación de especie de *Leishmania* desde la concentración equivalente a 1 parásito/reacción. La identificación de especies, el límite de detección y la eficiencia en la identificación especies de *Leishmania* spp a partir de láminas coloreadas con Giemsa mediante la técnica de PCR- HRM requiere el uso de marcadores multicopia, como la región conservada del minicírculo. La aplicación de la técnica PCR-HRM en muestras de láminas es una herramienta molecular novedosa, sencilla y útil por el fácil almacenamiento y transporte de las muestras

de pacientes desde las regiones más lejanas del país, lo cual podría permitir el pronóstico del desarrollo de la enfermedad y estudios epidemiológicos.

Abstract

Leishmaniasis is a disease caused by the protozoan of the genus *Leishmania*, and is transmitted to humans by sandfly bites. Peru reported an average of 7,000 cases of cutaneous leishmaniasis and 430 cases of cutaneous-mucosal leishmaniasis in 2016. The most important causal agents of Leishmaniasis are *Leishmania (Viannia) braziliensis*, which causes 98% of cases of mucosal and cutaneous-mucosal leishmaniasis, *Leishmania (V.) peruviana*, which causes cutaneous leishmaniasis and *Leishmania (V.) guyanensis*, *Leishmania (V.) lainsoni*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* and *Leishmania (V.) shawi* in less rate. The diversity of species of the genus *Leishmania* and its wide distribution in the Peruvian territory require the search of methods that allow to identify the species in a simple, reproducible and efficient way. The investigation was carried out by PCR – High Resolution Melting (HRM) analysis for four molecular markers, the conserved region of the minicircle, ITS-1, hsp 70 and *cyt b* in 243 Giemsa stained smears of the years 2010-2013 with lesions cutaneous. The genotyping assay allowed the correct assignment of five *Leishmania* species (*Leishmania (V.) peruviana*, *Leishmania (V.) braziliensis*, *Leishmania (V.) guyanensis*, *Leishmania (V.) lainsoni*, *Leishmania (L.) amazonensis*), whose sensitivity of technique was 93.00% . In addition, the analysis of the dissociation curves or HRMA allowed the identification of *Leishmania* species from the concentration equivalent to 1 parasite / reaction. The identification of species, the limit of detection and the efficiency in identifying species of *Leishmania* spp from sheets colored with Giemsa by the PCR-HRM technique requires the use of multicopy markers, such as the conserved region of the minicircle. The application of the PCR-HRM technique in sheet samples is a novel molecular tool, simple and useful for the easy storage and transportation of patient samples from the most distant regions of the country, which could allow the prognosis of the development of the disease and epidemiological studies.