

DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DA qPCR PARA DETECÇÃO DE *Leishmania infantum*: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Ariane Pereira da Costa¹;

¹Instituto Keizo Asami (iLika-UFPE), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/2335435910706716>

Rayane Maria Castro da Silva²;

²Instituto Keizo Asami (iLika-UFPE), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/3707039654204066>

Maysa Lohanna Barbosa Santos³;

³Instituto Keizo Asami (iLika-UFPE), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/8856809880695040>

Saulo Cockles Criasanto da Silva⁴;

⁴Instituto Keizo Asami (iLika-UFPE), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/4091489754723852>

Igor Soares Gouveia⁵;

⁵Instituto Keizo Asami (iLika-UFPE), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/5562815448511137>

Antônio Maurício Alves Neto⁶;

⁶Instituto Aggeu Magalhães (IAM-FIOCRUZ), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/8150604312901033>

Lucas Gabriel Bento de Souza Aleixo Correia⁷;

⁷Centro Universitário São Miguel, Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/6417936710899673>

Brenda Rocha Lima⁸;

⁸Centro Universitário Maurício de Nassau, Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/7578031018270111>

Ana Júlia Melo Vasconcelos⁹;

⁹Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/5406648571330642>

Janderson Weydson Lopes Menezes da Silva¹⁰;

¹⁰Instituto Aggeu Magalhães (IAM/FIOCRUZ), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/7193283471119466>

Fábio André Brayner dos Santos¹¹;

¹¹Instituto Aggeu Magalhães (IAM/FIOCRUZ), Recife, Pernambuco.

<http://lattes.cnpq.br/7464633588638483>

Luiz Carlos Alves¹².

RESUMO: A leishmaniose visceral (LV) é uma doença zoonótica que tem como agente etiológico nas Américas o protozoário da espécie *Leishmania infantum* e no velho mundo, a espécie *leishmania donovani*, cujo diagnóstico precoce é fundamental para reduzir complicações e mortalidade. Nesse contexto, a PCR quantitativa em tempo real (qPCR) tem se destacado como uma ferramenta molecular de elevada acurácia para detecção do parasito. O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho da qPCR no diagnóstico da LV humana e canina, por meio de uma revisão sistemática da literatura. As buscas foram realizadas nas bases PubMed, Embase e Scopus, abrangendo publicações em língua inglesa entre 2021 e 2026. Após aplicação dos critérios de exclusão, onze estudos foram incluídos na síntese qualitativa. Os resultados demonstraram ampla utilização de amostras de sangue, medula óssea e pele, além da avaliação de métodos menos invasivos, como swabs e microbiopsias. Os estudos incluídos sugerem que o kDNA tende a apresentar maior sensibilidade diagnóstica, enquanto os alvos 18S rDNA e ITS1 apresentaram elevado equilíbrio entre sensibilidade e especificidade. Os valores de sensibilidade variaram entre 81,8% e 100%, sendo que a maioria dos estudos reportou desempenho superior a 90%. Além disso, tecnologias emergentes, como PCR digital e plataformas lab-on-chip, demonstraram potencial para ampliar a aplicabilidade do diagnóstico molecular. Conclui-se que a qPCR apresenta elevado desempenho diagnóstico para leishmaniose, constituindo uma ferramenta promissora para diagnóstico, monitoramento terapêutico e vigilância epidemiológica.

PALAVRAS-CHAVE: Leishmaniose Visceral. Diagnóstico Molecular. DNA.

DIAGNOSTIC PERFORMANCE OF qPCR IN THE DETECTION OF *Leishmania infantum*: A SYSTEMATIC REVIEW

ABSTRACT: Visceral leishmaniasis is a potentially fatal parasitic disease caused by *Leishmania infantum*, and early diagnosis is essential to reduce complications and mortality. In this context, quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) has emerged as a highly accurate molecular tool for parasite detection. This study aimed to evaluate the diagnostic performance of qPCR by means of a systematic literature review. Searches were conducted in the PubMed, Embase and Scopus databases, including studies published in English between 2021 and 2026. Eleven studies were included in the qualitative synthesis. The results demonstrated the widespread use of blood, bone marrow, and skin samples, as well as the evaluation of less invasive methods such as swabs and microbiopsies. kDNA emerged as the most sensitive molecular target, whereas 18S rDNA and ITS1 showed a favorable balance between sensitivity and specificity. Reported sensitivity values ranged from 81.8% to 100%, with most studies demonstrating performance above 90%. Furthermore, emerging

technologies, such as digital PCR (ddPCR) and lab-on-a-chip platforms, showed potential to expand the applicability of molecular diagnostics. In conclusion, qPCR demonstrated high diagnostic performance for leishmaniasis and represents a promising tool for diagnosis, treatment monitoring, and epidemiological surveillance.

KEYWORDS: Visceral Leishmaniasis. Molecular Diagnostics. DNA.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença zoonótica que tem como agente etiológico nas Américas o protozoário da espécie *Leishmania infantum* e no velho mundo, a espécie *leishmania donovani* (Weslati *et al.*, 2022). Devido à sua potencial letalidade quando não tratada, o diagnóstico precoce e preciso é fundamental (Del Grossi, *et al.*, 2025). Tradicionalmente, o diagnóstico baseia-se em uma combinação de manifestações clínicas, dados epidemiológicos e exames laboratoriais (ORTEGA, *et al.*, 2017).

A reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) direcionada ao DNA do cinetoplasto minicircular (kDNA) representa uma ferramenta adequada para o diagnóstico de *Leishmania*, sendo um método sensível que permite determinar a carga parasitária (Galluzzi, 2018).

A qPCR para detecção de *L. infantum* utiliza alvos genéticos como o DNA do cinetoplasto (kDNA) ou o gene 18S rRNA, alcançando limites de detecção próximos a um parasito por reação e desempenho diagnóstico superior aos testes tradicionais em diferentes tipos de amostras (Mary *et al.*, 2004; Trajano-Silva *et al.*, 2017; Chicharro *et al.*, 2023).

Além de elevada sensibilidade e especificidade, a qPCR permite quantificar a carga parasitária, sendo útil para o monitoramento terapêutico, detecção de recidivas e estudos epidemiológicos em humanos, reservatórios e vetores (Rihs *et al.*, 2025; Mary *et al.*, 2004; Ortega *et al.*, 2017). Dessa forma, avaliar o desempenho da qPCR para detecção de *Leishmania infantum* é fundamental para consolidar seu papel no diagnóstico da Leishmaniose Visceral.

OBJETIVO

Avaliar o desempenho diagnóstico da PCR quantitativa em tempo real (qPCR) para a detecção de *Leishmania infantum* em humanos e cães, considerando diferentes tipos de amostras biológicas e alvos moleculares, por meio de uma revisão sistemática da literatura.

METODOLOGIA

O presente estudo caracteriza-se como uma revisão sistemática da literatura, com o objetivo de reunir e analisar criticamente as evidências científicas disponíveis acerca do desempenho diagnóstico da qPCR na detecção de *Leishmania infantum*. Tal abordagem permite a síntese crítica das evidências disponíveis, contribuindo para a consolidação do conhecimento científico e para a identificação de lacunas na literatura (Sampaio; Mancini, 2007).

No delineamento metodológico, este estudo caracteriza-se como estudo de natureza básica, objetivos descritivos e abordagem quali-quantitativa voltada à visão abrangente e rigorosa do saber científico. Essa perspectiva possibilita a análise integrada dos resultados reportados na literatura, ampliando a compreensão sobre as características e particularidades do tema investigado (Bardin, 2016; Marques *et al.*, 2025).

Para estruturação da busca científica, utilizou-se a estratégia PICO (População, Intervenção, Comparador e Desfecho) (Tabela 1). Sua aplicação contribui para a delimitação clara da pergunta de pesquisa e para a construção de estratégias de busca mais sensíveis e reprodutíveis, reduzindo a possibilidade de omissão de evidências relevantes durante o processo de revisão (Roever *et al.*, 2021).

Tabela 1. Estrutura da Estratégia PICO aplicada.

Componente	Definição no Estudo
P (População)	Cães e/ou humanos com Leishmaniose Visceral
I (Intervenção)	Ensaio de PCR quantitativa em tempo real (qPCR)
C (Comparador)	Tipos de amostras
O (Desfecho)	Sensibilidade e especificidade

Fonte: Autores (2026).

A partir da estratégia PICO, o levantamento bibliográfico foi realizado a partir da consulta às bases de dados: PubMed, Embase e Scopus; utilizando palavras-chave e descritores controlados oriundos do vocabulário estruturado dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (BIREME), respectivamente: qPCR, *Real-time PCR*, *Molecular diagnostics*, *Leishmania infantum*, *Visceral leishmaniasis*.

Objetivando a ampliação do alcance de busca, foram aplicados operadores booleanos para a intersecção dos termos, com a combinação final: “qPCR” OR “*Real-time PCR*” AND “*Molecular diagnostics*” AND “*Leishmania infantum*” OR “*Visceral leishmaniasis*”. A estratégia foi aplicada no idioma inglês em todas as bases de dados, visando o maior alcance de publicações dentro do recorte temporal de 2021 – 2026.

A seleção dos estudos elegíveis foi conduzida com base em critérios de inclusão e exclusão previamente definidos, visando assegurar o rigor metodológico, a consistência analítica e a confiabilidade dos resultados da revisão (Tabela 2):

Tabela 2. Critérios de elegibilidade de estudos para a revisão sistemática.

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Artigos originais	Estudo de revisão
Estudos com acesso aberto e gratuito	Acesso restrito ou indisponível ao texto completo
Estudos que apresentavam resultados do diagnóstico por qPCR para Leishmaniose Visceral	Estudos que não apresentavam dados de desempenho diagnóstico da qPCR

Fonte: Autores (2026).

A seleção dos estudos incluídos na amostra final foi realizada por meio da análise dos títulos e resumos das publicações identificadas, sendo os registros refinados conforme os critérios de elegibilidade previamente estabelecidos. Posteriormente, os estudos considerados elegíveis foram submetidos à leitura na íntegra, possibilitando a extração e análise das informações de interesse, bem como a compreensão das relações existentes entre os diferentes aspectos abordados nas investigações.

Por se tratar de uma pesquisa baseada exclusivamente em dados secundários obtidos em literatura científica e documentos de domínio público, este estudo não necessitou de apreciação por Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) ou pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). Ainda assim, foram observados os princípios éticos aplicáveis à pesquisa científica, com o devido respeito à propriedade intelectual e aos direitos autorais das obras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram incluídos 11 estudos publicados entre 2021 e 2026, conduzidos em humanos e/ou cães, que avaliaram o desempenho da qPCR para detecção de *Leishmania infantum* utilizando diferentes amostras biológicas, alvos moleculares e formatos de ensaio. A Tabela 3 apresenta uma síntese das principais características dos estudos incluídos, considerando o tipo de amostra, alvo molecular e população avaliada.

Tabela 3. Tipos de amostra, alvos moleculares e população.

Autor / Ano	Tipo de Amostra	Alvo Molecular	População (Cães e/ou Humanos)
Ramírez <i>et al.</i> , 2023	Sangue total	18S	Humanos
Owen <i>et al.</i> , 2021	Sangue total e Medula Óssea	kDNA	Humanos
Arnau <i>et al.</i> , 2023	Sangue total e Medula Óssea	Não especificado	Humanos
Ghosh <i>et al.</i> , 2023	Sangue total	Não especificado	Humanos
Latrofa <i>et al.</i> , 2024	Medula Óssea, linfonodo e sangue total	Não especificado	Cães
Rahat <i>et al.</i> , 2025	Sangue total	Não especificado	Humanos
De Luna <i>et al.</i> , 2025	Medula óssea	kDNA	Cães
Gritti <i>et al.</i> , 2026	Sangue total	kDNA e 18S	Humanos
Mohammed <i>et al.</i> , 2026	Medula Óssea, linfonodo e sangue total	ITS1	Cães
Costa <i>et al.</i> , 2025	Medula óssea	Não especificado	Cães
O'Brien <i>et al.</i> , 2025	Medula Óssea, linfonodo e sangue total	Não especificado	Cães

Fonte: Autores (2026)

As amostras biológicas empregadas variaram entre os estudos, sendo o sangue total mais frequentemente utilizada, presente em nove dos onze artigos incluídos. A medula óssea foi a segunda amostra mais utilizada, especialmente em estudos envolvendo cães (Latrofa et al., 2024; Costa et al., 2025; De Luna et al., 2025), mas também em algumas pesquisas realizadas com humanos (Owen et al., 2021; Arnau et al., 2023).

A escolha da amostra biológica mostrou influência direta sobre o desempenho diagnóstico da qPCR. Amostras de medula óssea apresentaram maior rendimento parasitológico devido à elevada carga parasitária normalmente encontrada nesse tecido.

Costa et al. (2025) demonstraram que a qPCR baseada em sondas TaqMan foi capaz de detectar infecções subclínicas em cães que não haviam sido identificadas pela citologia convencional, evidenciando a superioridade da biologia molecular em situações de baixa carga parasitária. Apesar de sua elevada sensibilidade, a coleta de medula óssea é um procedimento invasivo, o que limita sua aplicação em programas de triagem em larga escala. Nesse contexto, o sangue total destaca-se como uma alternativa mais acessível e clinicamente viável, apresentando desempenho satisfatório na maioria dos estudos analisados (Ortega *et al.*, 2017).

Em relação aos alvos moleculares, observou-se predominância do uso do DNA do cinetoplasto (kDNA), encontrados nos estudos de Owen et al. (2021), De Luna et al. (2025) e Gritti et al. (2026). Os resultados sugerem que esse alvo tende a apresentar maior sensibilidade diagnóstica quando comparado a outros marcadores moleculares. Gritti et al. (2026), por exemplo, observaram melhor desempenho analítico e clínico dos ensaios direcionados ao kDNA em comparação aos baseados em 18S. Essa diferença pode ser explicada pelo elevado número de cópias do kDNA presente em cada parasito, característica que aumenta a probabilidade de detecção mesmo em amostras com baixa carga parasitária (Chicharro *et al.*, 2023; Rihs *et al.*, 2025).

Outros alvos moleculares também apresentaram resultados promissores. Ramírez et al. (2023), utilizando o gene 18S rDNA em amostras de sangue, relataram sensibilidade e especificidade de 100%. De forma semelhante, Mohammed et al. (2026) demonstraram que o locus ITS1 alcançou sensibilidade de 91% e especificidade de 100%. Esses achados indicam que, embora o kDNA apresente tendência a maior sensibilidade, os alvos 18S rDNA e ITS1 oferecem desempenho consistente, com adequado equilíbrio entre sensibilidade e especificidade.

Quanto aos formatos de ensaio, a qPCR baseada em sondas fluorogênicas do tipo TaqMan foi a metodologia mais frequentemente empregada, sendo utilizada em estudos como os de Costa et al. (2025), Ramírez et al. (2023) e Gritti et al. (2026).

Diferenças importantes também foram observadas entre kits comerciais de qPCR. Arnau et al. (2023) verificaram que o kit Sacace apresentou sensibilidade diagnóstica de 100%, enquanto o kit VIASURE alcançou 81,8%. Segundo os autores, essas diferenças podem estar relacionadas ao desenho dos primers e sondas, aos limites de detecção estabelecidos e às características dos reagentes utilizados. Esses resultados reforçam

a importância da padronização metodológica para garantir maior comparabilidade entre estudos e maior confiabilidade na aplicação clínica da qPCR.

De modo geral, os estudos analisados demonstram que a qPCR apresenta elevado desempenho para o diagnóstico da leishmaniose visceral, com valores de sensibilidade variando entre 81,8% e 100%, sendo a maioria superior a 90%. Os resultados também evidenciam que fatores como o tipo de amostra biológica, o alvo molecular e a metodologia empregada influenciam diretamente a eficiência diagnóstica do método.

CONCLUSÃO

Os resultados desta revisão sistemática demonstram que a qPCR apresenta elevado desempenho diagnóstico para a detecção de *Leishmania infantum* em humanos e cães, configurando-se como uma das principais ferramentas moleculares para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral. O desempenho do método mostrou-se dependente do alvo molecular e da amostra biológica analisada, com destaque para o kDNA, que apresentou maior sensibilidade diagnóstica, e para a medula óssea, que demonstrou maior rendimento parasitológico. Assim, a qPCR se destaca como uma técnica promissora para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral.

Dessa forma, conclui-se que a qPCR representa uma importante estratégia para o aprimoramento do diagnóstico da leishmaniose visceral, contribuindo para a detecção precoce da infecção, o monitoramento terapêutico e o fortalecimento das ações de vigilância epidemiológica

REFERÊNCIAS

- ARNAU, A. *et al.* **Evaluation of the diagnostic sensitivity of the VIASURE Leishmania Real-Time PCR Detection Kit prototype for the diagnosis of cutaneous and visceral leishmaniasis.** *Transboundary and Emerging Diseases*, [s. l.], 2023. DOI: 10.1155/2023/1172087.
- BARDIN, L. **Análise de conteúdo.** São Paulo: Edições 70, 2016.
- CHICHARRO, C. *et al.* **Molecular diagnosis of leishmaniasis in Spain: development and validation of ready-to-use gel-form nested and real-time PCRs to detect *Leishmania* spp.** *Microbiology Spectrum*, v. 11, 2023. DOI: 10.1128/spectrum.03354-22.
- COSTA, J. *et al.* **When precision matters: bone marrow cytology meets qPCR in a pilot study quantifying *Leishmania infantum* load in dogs.** *Microorganisms*, 2025. DOI: 10.3390/microorganisms13092211.
- DE LUNA, R. L. N. *et al.* **Rapid isothermal molecular tests to discriminate between *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum* infections in dogs.** *Parasites & Vectors*, 2025. DOI: 10.1186/s13071-024-06633-7.
- DEL GROSSI, M. *et al.* **PD20 evaluation of diagnostic methods for visceral leishmaniasis detection.** *International Journal of Technology Assessment in Health Care*, v. 41, p. S46–S47, 2025. DOI: 10.1017/S0266462325101554.

GALLUZZI, L.; CECARELLI, M.; DIOTALLEVI, A.; MENOTTA, M.; MAGNANI, M. **Real-time PCR applications for leishmaniasis diagnosis.** *Parasites & Vectors*, v. 11, p. 273, 2018.

GHOSH, P. *et al.* **Evaluation of a point-of-need molecular diagnostic tool coupled with rapid DNA extraction methods for visceral leishmaniasis.** *Diagnostics*, 2023. DOI: 10.3390/diagnostics13243639.

GRITTI, T. *et al.* **Analytical and clinical performance of in-house and commercial real-time PCR assays for diagnosing *L. infantum* visceral leishmaniasis: a study from a hub center in Northern Italy.** *Journal of Clinical Microbiology*, 2026. DOI: 10.1128/JCM.01084-25.

LATROFA, M. S. *et al.* **Q3 lab-on-chip real-time PCR for the diagnosis of *Leishmania infantum* infection in dogs.** *Journal of Clinical Microbiology*, 2024. DOI: 10.1128/JCM.00104-24.

MARQUES, S. M. S.; DE OLIVEIRA, I. L.; SOARES, C. P. J.; BOMFIM, L. P.; MARQUES, R. F. Métodos de pesquisa: revisão sistemática, revisão integrativa e pesquisa documental. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, São José dos Pinhais, v. 18, n. 2, p. 01-15, 2025.

MARY, C.; FARAUT, F.; LASCOMBE, L.; DUMON, H. **Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity.** *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, p. 5249–5255, 2004. DOI: 10.1128/JCM.42.11.5249-5255.2004.

MOHAMMED, M.-D. W. *et al.* **Evidence gaps and global patterns in leishmaniasis control.** *Journal of Parasitology Research*, 2026. DOI: 10.1155/JAPR/88828651.

O'BRIEN, K. *et al.* **The leishmaniases in Kenya: a scoping review sub-analysis of diagnostics.** *BMJ Open*, 2025. DOI: 10.1136/BMJOPEN-2025-100230.

ORTEGA, M. V. *et al.* **Application of a specific quantitative real-time PCR (qPCR) to identify *Leishmania infantum* DNA in spleen, skin and hair samples of wild Leporidae.** *Veterinary Parasitology*, v. 243, p. 92–99, 2017. DOI: 10.1016/J.VETPAR.2017.05.015.

OWEN, S. I. *et al.* **Evaluation of qPCR on blood and skin microbiopsies, peripheral blood buffy coat smear, and urine antigen ELISA for diagnosis and test of cure for visceral leishmaniasis in HIV-coinfected patients in India.** *BMJ Open*, 2021. DOI: 10.1136/BMJOPEN-2020-042519.

RAHAT, M. A. *et al.* **Application of ddPCR for diagnosis and treatment monitoring of visceral leishmaniasis patients: addition of an ultrasensitive tool to the diagnostic arsenal.** *Microbiology Spectrum*, 2025. DOI: 10.1128/SPECTRUM.01800-25.

RAMÍREZ, J. *et al.* **Clinical performance of a quantitative pan-genus *Leishmania* real-time PCR assay for diagnosis of cutaneous and visceral leishmaniasis.** *Practical Laboratory Medicine*, 2023. DOI: 10.1016/J.PLABM.2023.E00341.

RIHS, J. B. *et al.* **Exploring real-time PCR techniques for diagnosing leishmaniasis.** *Parasitology Research*, v. 124, 2025. DOI: 10.1007/S00436-025-08503-2.

ROEVER, L.; GOMES-NETO, M.; DURÂES, A. R.; REIS, P. E. O.; POLLO-FLORES, P.; DA SILVA, R. M. L.; RESENDE, E. S. Compreendendo o GRADE: PICO e qualidade dos

estudos. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, Eletrônica, v. 19, n. 1, p. 54-61, 2021.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 11, n. 1, p. 83-89, 2007.

TRAJANO-SILVA, L. A. M. *et al.* **Standardization and evaluation of a duplex real-time quantitative PCR for the detection of *Leishmania infantum* DNA: a sample quality control approach.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 50, n. 3, p. 350–357, 2017. DOI: 10.1590/0037-8682-0012-2017.