

455P

#### ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS DO MINICÍRCULO COMPLETO DE kDNA DE *LEISHMANIA* DO SUBGÊNERO *VIANNIA* DA REGIÃO AMAZÔNICA.

Ishikawa, Edna A.Y.<sup>1,2</sup>, Sampaio, Maria I.<sup>3</sup>, Silveira, F.T.<sup>2</sup>, Shaw, J.J.<sup>4</sup>, Schneider, Horacio<sup>3</sup>, 1-UFPa/NMT; 2-Instituto Evandro Chagas/FUNASA, Belém-Pará; 3-UFPa/Bargança; 4-Instituto de Biomedicina/ USP, São Paulo.

**Introdução:** A Leishmaniose Tegumentar Americana é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que vem apresentando incidências cada vez mais elevada, constituindo deste modo um sério problema de saúde pública. Na região Amazônica, são conhecidas seis espécies de *Leishmania* que estão associadas à doença no homem. Nos últimos anos, diferentes regiões do genoma deste parasita tem sido alvo de grande interesse em vários estudos para a construção de marcadores moleculares espécie-específico para a realização de diagnósticos e identificação mais rápida, que é real importância para o tratamento adequado aos pacientes e melhor entendimento da epidemiologia desta doença. **Objetivos:** Analisar as seqüências completa dos minicírculos do kDNA das espécies de *Leishmania* pertencentes ao subgênero *Viannia* existente na região Amazônica. **Material e Métodos:** Foram utilizados primers B1 e B2 que amplificam, por PCR, o minicírculo completo do kDNA de *Leishmania* do subgênero *Viannia*. Os produtos obtidos por PCR foram inseridos em plasmídeos para a clonagem e posterior realização do sequenciamento. Foram analisados minicírculos de *Leishmania (Viannia) guyanensis* (N=8), *L. (V.) shawi* (N=25), *L. (V.) braziliensis* (N=41), *L. (V.) naiffi* (5) e *L. (V.) lainsoni* (N=5). **Resultados:** O tamanho dos minicírculos variaram entre 700 a 800 pb, independente de espécie e origem geográfica. A espécie *L. (V.) lainsoni* amplificou também um fragmento em torno de 300 pb. A região conservada que se limitou dentro de uma faixa de 200 pb apresentou sítios de seqüências nucleotídicas variáveis, que estão em mesma posição para todas as espécies, mas que não são espécie-específicos. **Conclusões:** Os resultados mostraram que não é possível obter um único iniciador espécie-específico dentro da seqüência de kDNA. No entanto observou-se nas posições 114 e 115 a ocorrência de variação polimórfica, tendo sido identificado quatro haplótipos: CA, TC, TA e CG. Os haplotipos TC e TA foram observados em *L. (V.) braziliensis*. Haplotipos CA, TC e CG em *L. (V.) shawi*. Já, na espécie *L. (V.) guyanensis* foram encontrados dois haplótipos CA e TC. Os haplotipos CG e TA são específicos de *L. (V.) shawi* e *L. (V.) braziliensis*, respectivamente. Assim, para com base nestes haplótipos é possível construir marcadores para a identificação destes parasitas por PCR, desde que formando um painel esquizodêmico para as análises.

456P

#### COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE RIFI (AG. IEC X AG. BIO-MANGUINHOS) E ELISA NO SORODIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA (LVC), ESTADO DO PARÁ, BRASIL.

De Jesus, Rosely C. S.; Corrêa, Zuila C.; Everdosa, Domingas R.; Martins, Antonio P.; Eliseu, Leônidas S.; Campos, Marliane B.; Jennings, Yara L.L.; Ishikawa, Edna A. Y.; de Souza, Adelson A. A.; Silveira, Fernando T. – Instituto Evandro Chagas (FNS), Belém, Pará, Brasil.

**Introdução:** Os testes sorológicos imunofluorescência indireta (RIFI) e imunoenzimático (ELISA) representam os principais instrumentos usados no sorodiagnóstico da leishmaniose visceral americana (LVA) humana e canina. Entretanto, apesar da doença estar associada, habitualmente, a apenas uma espécie de parasito, a *Leishmania (Leishmania) chagasi* Cunha & Chagas, 1937, o que, teoricamente, deveria facilitar a padronização de um antígeno específico para ser usado nesses testes, ainda hoje não existe um consenso na literatura especializada quanto ao emprego de um antígeno para uso no sorodiagnóstico da LVA humana e canina. **Objetivos:** Comparar a reatividade entre as técnicas RIFI e ELISA no sorodiagnóstico da LVC, Estado do Pará, Brasil, usando diferentes antígenos produzidos no laboratório de leishmanioses do Instituto Evandro Chagas (IEC, FUNASA) e Bio-Manguinhos (FIOCRUZ). **Material e Métodos:** Soro: 188 amostras de soro canino foram coletadas no período de agosto a outubro de 2002, procedentes dos municípios de Parauapebas, Marabá e São Domingos, localizados na região sudeste do Estado do Pará, onde, até o presente, não há registro de caso humano de LVA. **Testes sorológicos:** as amostras de soro foram submetidas à RIFI e ELISA. Para RIFI utilizaram-se dois antígenos brutos: 1) *Ag. do laboratório de leishmanioses do IEC*, constituído de formas amastigotas de *L. (L.) chagasi* (MCAO/BR/1998/M18.011 – Imperatriz, MA, Brasil), impregnado em lâmina de RIFI por aposição de fragmentos de fígado e baço de “hamster” infectado com o parasito. Após fixação com acetona o antígeno era preservado a -20°C; 2) *Ag. do laboratório de Bio-Manguinhos*, segundo bula que acompanha o kit do produto o antígeno está representado por formas promastigotas de *Leishmania sp.* (espécie não indicada). Para ELISA, cujo kit também foi produzido por Bio-Manguinhos, o antígeno era de natureza solúvel e purificado de *Leishmania* do complexo *donovani*. Em ambos os testes a classe de anticorpo pesquisada foi a IgG. Foram considerados positivos os soros com título igual ou maior que 80 para RIFI (IEC e Bio-Manguinhos) e soro com absorvância igual ou maior que 0,185 para ELISA (Bio-Manguinhos). Empregou-se o teste do Qui-quadrado com  $p < 0,05$  (programa INSTAT) para avaliação das diferenças