

MA041

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE DNA PARA DETECÇÃO DAS TRÊS ESPÉCIES DE PARASITOS DE MALÁRIA HUMANA PELA TÉCNICA DE NESTED-PCR EM LOCALIDADES DO ESTADO DO PARÁ

CHAMMA, N. N.¹; BARBOSA, D. R. L.²; VIANA, G. M. R.³; CARMO, E. L.³; PÓVOA, M. M.²

¹Instituto Evandro Chagas – IEC/SVS/MS – PIBIC – CNPq- Ananindeua – Pará; ²Instituto Evandro Chagas – IEC/SVS/MS – Ananindeua – Pará; ³Instituto Evandro Chagas – IEC/SVS/MS – UNESCO - Ananindeua – Pará.

Objetivos: Comparar os métodos de obtenção de DNA segundo Warhurst *et al.* (1991) e Wooden *et al.* (1993); verificar a frequência dos plasmódios e de infecções mistas e comparar os resultados do Nested-PCR com os da Gota Espessa (GE). **Material e Métodos:** Amostras de sangue em membrana Whatman® foram coletadas de residentes de Novo Repartimento, Parauapebas, Tucuruí e Belém (PA). Estas e os controles foram submetidos aos métodos de obtenção de DNA e ao Nested-PCR (Kimura *et al.*, 1997). **Resultados:** Das 153 amostras testadas pela Nested-PCR, 43,79% (67/153) foram positivas e 56,20% (86/153) negativas segundo Warhurst *et al.* (1991). Por Wooden *et al.* (1993), 51,63% (79/153) foram positivas e 48,36% (74/153) negativas. Pela GE, 49,01% (75/153) positivas e 50,98% (78/153) negativas. A sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, e acurácia do Nested-PCR segundo Warhurst *et al.* (1991) foram 89,33%, 100%, 100% e 90,70%, e 94,77%, respectivamente quando comparada com GE, enquanto Wooden *et al.* (1993) obteve: 100%, 94,87%, 94% e 100%, e 97,39%, respectivamente para os mesmos parâmetros. O Nested-PCR detectou quatro infecções mistas (*P. falciparum* + *P. vivax*) pelo método de Warhurst *et al.* (1991) e cinco (*P. falciparum* + *P. vivax*; *P. vivax* + *P. malariae*) por Wooden *et al.* (1993) que não foram detectadas pela GE ($p < 0,05$). **Conclusão:** O Nested-PCR demonstrou elevadas sensibilidade e especificidade na detecção de infecções maláricas, sobretudo em infecções mistas e o protocolo de Wooden *et al.* (1993) foi mais sensível como método de obtenção do DNA para detecção dos plasmódios.

MA043

ESTUDO RETROSPECTIVO DO NÚMERO DE CASOS DE MALÁRIA HUMANA NO MUNICÍPIO DE TUCURUÍ, ESTADO DO PARÁ, NO PERÍODO DE JANEIRO DE 1995 A OUTUBRO DE 2005

VIANA, G. M. R.¹; COSTA, E. G.²; AZEVEDO, K. I. B.³; CHAGAS, L.³; PÓVOA, M. M.¹

¹Instituto Evandro Chagas – IEC/SVS/MS – Ananindeua – Pará; ²Departamento de Controle de Endemias da Secretaria Executiva de Saúde Pública do Estado do Pará (SESPA) – Belém - Pará; ³Especialização em Saúde Pública - Instituto de Pós-Graduação e Extensão (IBPEX) – Belém – Pará.

Objetivos: Realizar levantamento do número de casos de malária humana em Tucuruí (Pará) de Janeiro de 1995 a Outubro de 2005; descrever o comportamento da malária no período estudado e analisar fatores que influenciaram nestas notificações. **Material e Métodos:** O número de casos de malária disponibilizados pela Secretaria de Saúde Pública do Estado do Pará (SESPA), notificados pelos Sistemas de Informações Epidemiológicas no período investigado foram contabilizados. Também foram consultados os sistemas MEDLINE (National Library of Medicine), LILACs (Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud) e SCIELO (Scientific Electronic Library Online). **Resultados:** Foram examinadas 78.208 Gotas Espessas (GE) em Tucuruí, sendo 43,05% (33.673/78.208) positivas. O *Plasmodium vivax* foi responsável por 81,64% (27.490/33.673) das monoinfecções, seguido do *P. falciparum* com 17,10% (5.758/33.673) e 1,26% (425/33.673) de infecções mistas por *P. vivax* + *P. falciparum*. No período estudado, não houve casos por *P. malariae*. Os determinantes para a transmissão foram os assentamentos, extrativismo mineral e vegetal, acampamentos, fronteiras interestaduais deficientes de controle de fluxo migratório adequado, áreas de invasão sem infra-estrutura. A média do Índice Parasitário Anual (IPA) foi 41,11; classificando o município como de médio risco para a transmissão de malária. Entretanto, no período de 1999 a 2002, o IPA registrado foi superior a 49,9; caracterizando este intervalo como de alto risco de transmissão. **Conclusão:** A distribuição anual das notificações de malária em Tucuruí foi variável durante o estudo; a espécie mais prevalente foi *P. vivax* e a média do IPA em Tucuruí no período analisado foi 41,11.

MA042

DESEMPENHO DA TÉCNICA DE NESTED-PCR EM DETECTAR A INFECÇÃO MALÁRICA USANDO DNA DE LÂMINAS DE GOTA ESPESSA (GE) CORADAS EM AMOSTRAS DE PACIENTES RESIDENTES EM LOCALIDADES DO ESTADO DO PARÁ – RESULTADOS PRELIMINARES.

VIANA, G. M. R.³; CHAMMA, N. N.¹; CARMO, E. L.³; PERES, J. M. V.²; NASCIMENTO, J. M. S.²; PÓVOA, M. M.²

¹Instituto Evandro Chagas – IEC/SVS/MS – PIBIC – CNPq- Ananindeua – Pará; ²Instituto Evandro Chagas – IEC/SVS/MS – Ananindeua – Pará; ³Instituto Evandro Chagas – IEC/SVS/MS – UNESCO - Ananindeua – Pará.

Objetivos: Avaliar o desempenho da técnica de Nested-PCR em detectar a infecção malárica usando DNA de lâminas de Gota Espessa (GE) coradas; Determinar a frequência dos plasmódios e de infecções mistas e comparar os resultados com os da microscopia convencional de GE corada pelo Giemsa. **Material e Métodos:** Lâminas positivas (parasitemia de 0,01 a 2,00%) e negativas (n=52) de GE coradas para realização do diagnóstico da malária, oriundas de residentes de Novo Repartimento, Parauapebas, Tucuruí, Ananindeua e Belém (PA), foram utilizadas neste estudo. Estas e os controles foram submetidos ao método de obtenção de DNA segundo Alger *et al.* (1996) e ao Nested-PCR segundo Kimura *et al.* (1997). **Resultados:** Das 52 amostras testadas pelo Nested-PCR, 94,23% (49/52) foram positivas e 5,77% (3/52) negativas. Pela GE, 90,38% (47/52) foram positivas e 9,62% (5/52) negativas. A sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, e acurácia do Nested-PCR foram 97,87%, 40,00%, 93,88% e 66,67%, e 92,31%, respectivamente quando comparada com a GE. O Nested-PCR detectou 57,69% (30/52) de infecções mistas, sendo 53,85% (28/52) com o perfil de *P. falciparum* + *P. vivax* e 3,84% (2/52) devido *P. vivax* + *P. malariae*, que não foram detectadas pela GE ($p < 0,05$). **Conclusão:** O Nested-PCR demonstrou elevada sensibilidade na detecção de infecções maláricas, principalmente em casos de infecções mistas e o protocolo de Alger *et al.* (1996) para obtenção de DNA de lâminas de GE coradas pode ser usado para o Nested-PCR como método alternativo e complementar de diagnóstico laboratorial de malária humana.

MA044

CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO GENE DO SISTEMA SANGÜÍNEO DUFFY DE PACIENTES COM MALÁRIA POR *Plasmodium vivax* E DE DOADORES DE SANGUE DA AMAZÔNIA BRASILEIRA.

CAVASINI C.E.¹; GOLLINO, Y.¹; MORETTI L. J.¹; COUTO A. A. A.²; F. ROSSIT A. R. B.¹; MATTOS L. C.¹; MACHADO R. L. D.¹

¹Centro de Investigação de Microrganismos, departamento de Doenças Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, SP; ²Faculdade SEAMA, Amapá, AP.

Objetivos: Determinar as frequências alélicas e genotípicas do gene do sistema sanguíneo Duffy de indivíduos maláricos e não maláricos da Amazônia brasileira. **Materiais e Métodos:** Foram triados 307 indivíduos infectados por *Plasmodium vivax* e 200 doadores de sangue negativos pelo diagnóstico molecular para o Plasmódio. A genotipagem foi realizada pelo método PCR/RFLP. Para análise de independência entre as proporções foi aplicado o teste exato de Fisher ($\alpha < 5\%$). **Resultados:** O genótipo *FY1FY2* foi o mais frequente nas duas populações estudadas. O genótipo *FY1/FY2^{ES}* foi o menos detectado nos pacientes maláricos e o genótipo *FY1/FY1* nos doadores de sangue. O genótipo Duffy negativo (*FY2^{ES}/FY2^{ES}*) foi detectado em 5,0% dos doadores de sangue, enquanto que nenhum indivíduo infectado apresentou este genótipo. As frequências genotípicas e alélicas foram semelhantes nos grupos estudados, exceto para a presença do alelo *FY^{ES}*, que foi estatisticamente significante menor no grupo de pacientes maláricos. **Conclusões:** Nossos resultados permitiram demonstrar menor frequência de infecção por *P. vivax* nos indivíduos portadores do alelo *FY2^{ES}*. A fim de compreender o papel destes polimorfismos do gene do sistema sanguíneo Duffy nos pacientes, estudos estão sendo conduzidos em nosso laboratório avaliando a região promotora do gene *FY*. Estes polimorfismos podem demonstrar uma significativa associação com a suscetibilidade ou resistência à malária. Contudo, há que se acompanhar longitudinalmente grupos de pessoas portadoras deste alelo para melhor esclarecer essa relação parasito/hospedeiro na população da região Amazônica brasileira.

Fonte financiadora: FAPESP (02/09546-1); CNPq (302353/03); BAP – FAMERP/FUNFARME