

CAMILA DE PÁDUA VIDIGAL

Enzimaimunoensaio com antígenos de *Leishmania (Viannia) braziliensis* para o diagnóstico laboratorial de leishmaniose tegumentar americana

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias e Saúde do Homem

Orientador: Profa. Dra. Thaís Gomes Verzignassi Silveira

Maringá

2007

RESUMO

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) tem vasta distribuição geográfica, abrangendo todos os estados do Brasil, onde acomete pessoas de todas as faixas etárias e de ambos os sexos. Os métodos para o diagnóstico laboratorial são parasitológicos e imunológicos. Com o objetivo de fracionar antígenos de *Leishmania (Viannia) braziliensis* e estudar sua reatividade com soros de pacientes, formas promastigotas foram submetidas à cromatografia de coluna de gel filtração (Sephadex G100) e de troca iônica (DEAE-Sepharose Fast-Flow). A reatividade do antígeno fracionado foi avaliada por ensaio imunoenzimático (ELISA-IgG) utilizando soros de pacientes com LTA, doença de Chagas, toxoplasmose e paracoccidiodomicose. Os resultados mostraram que a fração “pico II da fração 8” conseguiu distinguir os soros de pacientes com LTA dos soros de indivíduos saudáveis e com outras doenças ($P < 0,0001$) apresentando 85,4% de sensibilidade e 91,2% de especificidade. Resultados falsos positivos foram encontrados com soros de chagásicos (16,6%) e de indivíduos saudáveis (10,4%). Não foram detectados resultados falsos positivos com os soros de pacientes com toxoplasmose e paracoccidiodomicose. A fração obtida apresenta boa sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da LTA e abre novas perspectivas no uso da sorologia no diagnóstico laboratorial, inquéritos soroepidemiológicos e no acompanhamento do tratamento de LTA.

Palavras-chave: *Leishmania braziliensis*; Leishmaniose cutânea; Cromatografia; ELISA.

ABSTRACT

The American cutaneous leishmaniasis (ACL) has wide geographical distribution, including in all States of Brazil and occurs in all ages and in both sexes. Parasitological and immunological tests are the most commonly used methods for ACL laboratorial diagnosis. In order to fractionate antigens of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and to study their reactivity with sera of patients with ACL, promastigote forms was submitted to gel filtration chromatography (Sephadex G100) and to ionic change chromatography (DEAE-Sepharose Fast-Flow). The antigen reactivity was evaluated by enzyme immunoassay (ELISA-IgG) using sera of patient with ACL, Chagas disease, toxoplasmosis, and paracoccidioiomycosis. The results showed that the "fraction 8 pick II" distinguished ACL patients sera from healthy individuals and with another diseases ($P < 0.0001$) presenting 85.4% of sensitivity and 91.2% of specificity. False positive results were found with sera from Chagas' disease patients (16.6%) and healthy individuals (10.4%). False positive results were not detected in sera from patients with toxoplasmosis and paracoccidioiomycosis. The fraction obtained shows good sensitivity and specificity for the ACL diagnosis and makes new perspectives to use serology in the laboratorial diagnosis, seroepidemiology and in the following up of ACL treatment.

Key-words: *Leishmania braziliensis*; Cutaneous leishmaniasis; Chromatography; ELISA.