



XVIII
CONGRESSO BRASILEIRO DE
PARASITOLOGIA
Passado • Presente • Futuro



26 a 29 de Agosto de 2003

Hotel Glória
Rio de Janeiro - RJ

Livro de Resumos

P0018 SEQUENCIAMENTO DE UM CLONE GENÔMICO DE QUITINASE INTESTINO-ESPECÍFICA DE *LUTZOMYIA LONGIPALPIS*

ORTIGÃO-FARIAS JR; TRAUB-CSEKÖ YM

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular; Instituto Oswaldo Cruz; FIOCRUZ; Rio de Janeiro

Leishmanioses são causadas por parasitas do gênero *Leishmania*, transmitidos pela picada do inseto flebotômico infectado. Os atuais métodos de combate a esta moléstia têm-se mostrado ineficientes, fazendo-se necessário o desenvolvimento de novas técnicas para o controle de vetores. Pouco se conhece sobre a fisiologia da digestão e mecanismos de interação flebotômico-leishmânia. Em nosso laboratório estamos estudando moléculas expressas diferencialmente durante a alimentação sangüínea e a infecção de *Lutzomyia longipalpis*, o principal vetor da leishmaniose visceral no Brasil. Para tal usamos técnicas de biologia molecular como a caracterização aleatória de seqüências de cDNA (ESTs) que codificam proteínas expressas no tubo digestivo do vetor e de seqüências encontradas por expressão diferencial (DDRT-PCR). Um dos cDNAs de interesse identificados por DDRT-PCR codifica uma quitinase com alta expressão após 72 horas do repasto sangüíneo e que pode ter um papel na degradação da matriz peritrófica. Esta seqüência foi usada para isolar um clone genômico que está sendo sequenciado. Isto permitirá a identificação de introns e também a possível identificação de seqüências promotoras e regulatórias. A porção do gene entre os extremos codificantes, referente à seqüência transcrita no RNA primário, foi amplificada por PCR com oligonucleotídeos que se anelam nos extremos do cDNA e sequenciada em quase sua totalidade. As regiões flanqueadoras do gene estão sendo amplificadas com oligonucleotídeos específicos, que se anelam nos extremos do cDNA, pareados com oligonucleotídeos degenerados que anelam fora do gene. Estes produtos de PCR estão sendo sequenciados por "primer walking" e as seqüências analisadas em computador.

P0097 DNA ANTIGO DE *ENTEROBIUS VERMICULARIS* (LINNAEUS, 1758) EM POPULAÇÕES PRÉ-HISTÓRICAS DAS AMERICAS :REGIÃO INTERGÊNICA DO GENE RIBOSSOMAL 5S RNA E DO GENE SL1 RNAALENA M. IÑIGUEZ^{*1}, KARL J. REINHARD², LUIZ FERNANDO FERREIRA³, ADAUTO ARAÚJO³, ANA CAROLINA P. VICENTE¹.

¹Departamento de Genética, IOC, FIOCRUZ, Rio de Janeiro RJ, Brasil. ²School of Natural Resource Sciences, University of Nebraska-Lincoln, NE, U.S.A. ³Departamento de Endemias, ENSP, FIOCRUZ.

O propósito foi desenvolver uma abordagem metodológica para a recuperação de DNA antigo (aDNA) de *Enterobius vermicularis* a partir de coprólitos humanos provenientes de sítios arqueológicos das Américas, visando estabelecer o diagnóstico paleoparasitológico molecular e estudar a variabilidade genética do parasita isolado em diferentes regiões geográficas. Propomos como região alvo a região intergênica dos genes ribossomais 5S RNA de *E. vermicularis* que contém inserido o gene *Splicing Leader* (SL1) RNA, gene que possui estruturas secundárias características. Esta abordagem metodológica foi avaliada em coprólitos experimentais, isto é, fezes positivas para *E. vermicularis* desidratadas artificialmente. Posteriormente, trabalhamos com 27 coprólitos provenientes de sítios arqueológicos do Chile e Estados Unidos, com datações desde 4110 aC (antes de Cristo) até 900 A.D. (Anno Domini). A seqüência nucleotídica dos parasitas antigos foi determinada a partir de produtos clonados e da PCR. A abordagem utilizada se mostrou eficiente no diagnóstico molecular de *E. vermicularis* em coprólitos experimentais e na recuperação de aDNA em coprólitos provenientes de sítios arqueológicos. A análise das seqüências da região intergênica do parasito proveniente de coprólitos revelou um alto grau de conservação nesta região e presença do gene SL1 RNA. Adicionalmente foi sugerida uma estrutura secundária para o gene SL1 RNA de *E. vermicularis* antigo. A presença do gene SL1 RNA deve ser o fator determinante da baixa variabilidade encontrada na região intergênica. Pela primeira vez são demonstrados o diagnóstico e a recuperação de seqüências de aDNA de *E. vermicularis*, assim como a análise da estrutura secundária de um gene a partir de DNA antigo.

P0065 COMPARAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA COLORAÇÃO PELA TÉCNICA DA SAFRANINA A QUENTE E DA TÉCNICA DE SEDIMENTO-FLUTUAÇÃO NA DETECÇÃO DE OOCISTOS DE *CRYPTOSPORIDIUM*

HUBER, FRANZISKA¹; BOMFIM, TERESA C.*²; GOMES, RAQUEL S.³

¹ Curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias – Parasitologia Veterinária, UFRRJ, ² Departamento de Parasitologia Animal – IV - UFRRJ, ³ Estagiária do SINTEG – UFRRJ – DPA.

OBJETIVOS: O presente trabalho visa comparar duas técnicas de diagnóstico para oocistos de *Cryptosporidium* sp., em fezes de cães e gatos clinicamente saudáveis. **MATERIAL e MÉTODOS:** Foram coletadas 166 amostras fecais de cães e 48 de gatos, totalizando 214 amostras. No laboratório, as fezes foram homogeneizadas com água destilada e filtradas em tamis de plástico descartáveis contendo uma gaze. Após esta filtragem, o material fecal foi colocado em tubos de ensaio cônicos de 15 ml e centrifugados à 402,48G por 10 minutos. Desprezou-se o sobrenadante, e com uma alíquota do sedimento foi realizado um esfregaço em lâmina de vidro, para a realização de coloração pela técnica da Safranina a quente. Ao sedimento restante, do tubo cônico, adicionou-se solução saturada de açúcar (330ml de água destilada e 500g de açúcar) e após ser homogeneizado, o material foi centrifugado a 402,48G por 5 minutos. Posteriormente, o tubo foi completado com solução de açúcar e coberto com uma lamínula, ficando em repouso por 3 minutos. A lamínula foi montada sobre uma lâmina de vidro e examinada em microscópio óptico com e sem contraste de fase. Para análise estatística foi utilizado o teste Qui-quadrado. **RESULTADOS E CONCLUSÕES:** Dos 214 exames fecais examinados pela centrífugo-flutuação, 10 continham oocistos de *Cryptosporidium* sp., sendo quatro amostras de cães e seis amostras de gatos. Já nas lâminas coradas pela técnica da Safranina a quente, foi possível a visualização de oocistos em apenas duas lâminas de esfregaço de fezes de cães. Houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as duas técnicas, sendo que a centrífugo-flutuação é a mais indicada para o diagnóstico de *Cryptosporidium* sp. em cães e gatos clinicamente saudáveis.

P0096 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO MOLECULAR DE *ENTEROBIUS VERMICULARIS*: ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE DA REGIÃO INTERGÊNICA DO GENE RIBOSSOMAL 5S RNA.

ALENA M. INÍGUEZ*¹, SIMONE M. S. LOPEZ², RIANY S. SILVEIRA², SELMA R. LIMA², LUIZ FERNANDO FERREIRA³, ADAUTO ARAÚJO³, ANA CAROLINA P. VICENTE¹

¹Departamento de Genética, IOC, FIOCRUZ, Rio de Janeiro RJ, Brasil. ²Laboratório de Parasitologia, Unidade de Saúde, ENSP, FIOCRUZ ³Departamento de Endemias, ENSP, FIOCRUZ.

Nosso objetivo foi definir uma abordagem para o diagnóstico parasitológico molecular de *Enterobius vermicularis* a partir de amostras fecais humanas. Propomos a extração de DNA direto de sedimento das amostras fecais e o uso da PCR da região intergênica do gene 5S rRNA de *E. vermicularis*. Esta estratégia foi analisada quanto à especificidade e sensibilidade considerando o número de ovos do parasita. Cinquenta e uma amostras fecais coletadas de pacientes de distintas regiões geográficas do Brasil, e microscopicamente positivas para diversos enteroparasitos incluindo 24 para *E. vermicularis* fizeram parte deste estudo. O DNA foi extraído, purificado e quantificado. Oligonucleotídeos foram definidos para a PCR que teve como alvo fragmentos de 420pb e 198pb da região intergênica do gene 5S rRNA de *E. vermicularis*. Perfis de restrição e seqüenciamento nucleotídico foram determinados para confirmar a natureza dos produtos da PCR. O diagnóstico molecular, considerando 420pb da região identificou 20 das 24 amostras microscopicamente positivas para o parasito, e quando a região de 198pb foi considerada, 100% das amostras analisadas foram positivas, inclusive amostras co-infetadas. O alvo de 198pb foi sensível para diagnosticar *E. vermicularis* em amostras fecais com apenas um único ovo do parasito. O perfil de digestão foi idêntico ao esperado pela simulação de corte da região intergênica. A análise das seqüências além de confirmar a região alvo, também demonstrou que as seqüências brasileiras são conservadas entre si. Adicionalmente, foram identificadas a seqüência e estrutura do gene SL1 RNA de *E. vermicularis* dentro da região alvo. Propomos a utilização desta abordagem molecular, altamente específica e sensível, no diagnóstico paleoparasitológico molecular de *E. vermicularis*, assim como alternativa nas análises clínicas de difícil diagnóstico.

P0561 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DA IDADE FISIOLÓGICA DE *ANOPHELES DARLINGI* (DIPTERA CULICIDAE) NA TRANSMISSÃO DE MALÁRIA EM PORTO VELHO – RONDONIA – BRASIL.

Soares, S.S.S.¹ Santos, F²; Silva, V.L.^{2*}

1- Universidade Federal de Rondonia – UNIR

2- Fundação Nacional de Saúde – FUNASA

Introdução: Dentre os problemas de enfermidades encontradas no mundo, a malária figura entre um dos mais importantes, e dependendo dos fatores de riscos presentes nas diversas áreas onde aparece, assume variações epidemiológicas distintas, o que dificulta o controle. *Anopheles (Nys.) darlingi*, é o principal vetor de malária humana no Brasil, responsável principal pela manutenção da endemia e pelos surtos epidêmicos da doença na região amazônica brasileira, sendo de primordial importância os estudos de idade fisiológica e de capacidade vetorial deste mosquito, a fim de permitir melhor direcionamento e avaliação das medidas de controle contra este vetor.

Material e Métodos: Foram selecionadas três áreas localizadas em Porto Velho onde *Anopheles darlingi* adultos foram coletados, para serem estudados aspectos do desenvolvimento, a fim de ser avaliada a importância da idade fisiológica, em áreas onde medidas de controle vetorial são aplicadas rotineiramente.

Resultados e Conclusão: Do total de mosquitos coletados, 91,7 % eram *An. darlingi*. Após a dissecação de ovariolos, foi observado que a idade fisiológica média/ dias dos mosquitos coletados, está entre 4 (Estrada da Penal), e 9,0 (Nacional) dias. O alto grau de antropofilia, a disponibilidade anual de *An. darlingi*, assim como falhas na operação das medidas de controle vetorial podem ser fatores preponderantes para a manutenção da malária nestas áreas. Estudos complementares para a avaliação da capacidade vetorial devem ser feitos, pois seus resultados contribuiriam para o melhor direcionamento das medidas de controle de vetores de malária em Rondônia.

P0562 DELIMITING SPECIES BOUNDARIES IN THE *PULEX IRRITANS/ SIMULANS* COMPLEX (SIPHONAPTERA: PULICIDAE)

K. Dittmar¹, M.F. Whiting², A. Araujo³

^{1,2} Brigham Young University, Department of Integrative Biology, 401 WIDB, Provo, Utah, 84602, USA

³ Fundação Oswaldo Cruz, Escola de Saúde Pública, Rio de Janeiro, Brazil

Until today, the genus *Pulex* is not clearly defined. Currently 6 described species are assigned to the genus. It is well established, that *simulans* and *irritans* are closely related.

SMIT (1958) described some morphological characters and concluded, that females can not be separated with certainty and rather get assigned the species that the male was categorized.

Both species have been discussed as vectors for certain pathogens, among them *Yersinia pestis* and several *Rickettsial* agents, which are responsible for Murine Typhus. A lot of confusion has stemmed from the poorly understood taxonomy. Vector efficiency studies in an attempt to indicate the role of a specific flea in the transmission failed, as too little is known about the biology and taxonomy of the flea. The unclear taxonomy also frequently led to an underestimation of *Pulex simulans*, although it is generally much more abundant and widespread.

The molecular markers which promised to provide enough information for a analysis on the intra- and interspecific levels were cytB, coII, ITS1, and ITS 2.

For the analysis on a population level we conducted Parsimony- and Maximum-Likelihood based phylogenetic analysis as well as network approaches (Nested Clade Analysis).

The analysis of a world-wide dataset revealed paraphyly on the species level. It could be proven, that the species originated in South America and spread toward the North, until finally reaching the Old World.

P0024 PREVALÊNCIA DE ESTRONGILOIDÍASE EM PACIENTES HIV POSITIVOS NO INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS NO PERÍODO DE 1993 A 1998.

*Assis, K. V., Cruz, S. A., Reis, R. N., Cotrin, M.R. G. & Camillo – Coura, L.

IPEC – *ENSP/DCB - (FIOCRUZ) – RJ

A) **Objetivo.** Verificar a prevalência do *Strongyloides stercoralis* em pacientes infectados pelo HIV.

B) **Material e Métodos.** O diagnóstico parasitológico foi realizado através de exames parasitológicos com as técnicas de Baermann – Moraes, Ritchie modificado, Lutz e Kato – Katz. Os dados referentes a sexo e idade foram obtidos dos prontuários dos pacientes do programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST / AIDS), fornecidos pelo Serviço de Estatística Documentação – SED.

C) **Resultados e Conclusões.** Foram investigados 100 casos de pacientes com *Strongyloides stercoralis*; 35 pacientes foram tratados, 38 recidivaram, e em 17 não foi possível fazer o acompanhamento periódico; 10 foram a óbito. Todos os pacientes incluídos no estudo apresentavam dois ou mais exames parasitológicos para *Strongyloides stercoralis*; a distribuição em relação ao sexo e faixa etária, encontra-se apresentado nas tabelas de acordo:

Sexo			Sexo			
Faixa Etária	M	F	Pacientes HIV/Aids	M	F	Total
20-25	30	5	Tratado/cura do Strongyloidíase	23%	12%	35%
30-35	21	5	Tratado/sem controle	18%	10%	38%
40-45	20	9	Óbitos	8%	2%	10%
Total	71	29	Sem história	12%	5%	17%

Os dados apresentados são preliminares; existem poucas referências bibliográficas da infecção por *Strongyloides stercoralis* em pacientes com AIDS/HIV. É de grande importância o diagnóstico e tratamento precoces, devido à possível gravidade da associação deste patógeno no envolvimento pulmonar e sistêmico; este estudo propõe a investigação, em rotina laboratorial, dos exames parasitológico específicos para *Strongyloides stercoralis* em pacientes com AIDS, além de orientar para uma tentativa de correlação com o quadro clínico.

P0026 ADAPTAÇÕES METODOLÓGICAS DE PREPARO DE LÂMINAS APLICADAS AOS ESTUDOS PALEOPARASITOLÓGICOS.

Silva, T.P.*; Duarte, A. N. & Araújo, A.

Laboratório de Paleoparasitologia – DENSP / ENSP / FIOCRUZ.

O diagnóstico paleoparasitológico baseia-se no achado de formas evolutivas de helmintos e de protozoários, em lâminas preparadas a partir de coprólitos. A interpretação dos resultados contribui na compreensão das migrações de hospedeiros, além de ampliar o conhecimento sobre infecções parasitárias no passado, e constrói um quadro de distribuição das parasitoses intestinais, na pré-história.

Embora bem estabelecida a metodologia de exames parasitológicos, que permite analisar e documentar achados, uma questão permanece discordante: A pouca duração das montagens entre lâminas e lamínulas. As preparações são passíveis de desidratação, impossibilitando estudos posteriores e coleção destas para referência. A solução encontra-se na obtenção de preparos permanentes protegidos por vedações duradouras, ou por inclusão em bálsamos ou resinas naturais ou sintéticos, sem que haja alterações de formas e medidas das formas evolutivas dos parasitos.

Coprólitos experimentais obtidos por desidratação de fezes com resultados parasitológicos conhecidos são processados pelo Método de Lutz. De seus sedimentos, alíquotas individuais são submetidas à desidratação em série alcoólica crescente, para montagem entre lâmina e lamínula em Líquido de Arlé, em Meio de Hoyer e em glicerina. Ovos de helmintos encontrados nas montagens são comparados àqueles observados através da metodologia convencional.

Os resultados obtidos, utilizando os métodos de inclusão não demonstram haver alterações morfológicas e morfométricas, embora análises estatísticas mais aprofundadas das medidas ainda não foram concluídas.

P0597 INFECÇÕES PARASITÁRIAS NA EUROPA MEDIEVAL (SÉC. XVI)

FERNANDES A.^{*1}, BOUCHET F.², GONÇALVES M.³, KLEIN, C.H.⁴, IGUCHI, T.⁵, FERREIRA, L.F.⁶, ARAÚJO A.⁷

^{1, 3, 4, 5, 6, 7} ENSP/FIOCRUZ Rua Leopoldo Bulhões 1480-Manguinhos 21041-210 Rio de Janeiro RJ

² Universidade de Reims, Faculdade de Farmácia, 51, rue Cognacq-Jay 51096 Reims, França

O sítio arqueológico de Raversijde situa-se em Ostende, litoral da Bélgica. Nas escavações, identificaram-se estruturas semelhantes a latrinas, fossas ou depósitos, cujos sedimentos foram enviados para pesquisa de parasitos intestinais. No encontro de ovos de *Ascaris* e *Trichuris*, a identificação da espécie, se de origem humana ou suína, é difícil, pois os ovos de *A. lumbricoides* e *A. suum*, e *T. trichiura* e *T. suis* são quase indistintos morfológicamente. Para *Trichuris*, ligeiras diferenças morfométricas podem separá-los. **Objetivos:** Verificar a ocorrência de parasitoses nos antigos habitantes de Raversijde e diagnosticar as espécies de parasitos, humanos e animais encontradas.

Material e Métodos: Examinaram-se 9 amostras colhidas de 2 estruturas, reidratadas em Na₃PO₄ por 72 horas para exame microscópico após sedimentação. Os ovos foram fotografados e medidos com ocular micrométrica. As médias de comprimento e largura dos ovos de *Ascaris* e *Trichuris* foram comparadas com aquelas conhecidas de duas espécies em populações atuais empregando-se critérios de avaliação estatística.

Resultados e conclusões : Tratam-se de ovos de *T. trichiura*, espécie exclusiva de humanos. Sua associação com ovos de *Ascaris* permite identificar a espécie como *A. lumbricoides*.

P0603 MONTAGEM DEFINITIVA DE NEMATÓIDES ESPIRURÍDEOS DE AVES E MAMÍFEROS (NEMATODA-SPIRURIDA): AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS

D'ÁVILA, S* ; MELLO-SILVA, C.C.; SANTOS, M.D.; RODRIGUES, M.L.

CPGCV-Parasitologia Veterinária- DPA-IV_UFRRJ

Objetivo: O presente estudo teve como objetivo verificar a eficiência de técnicas de clarificação e montagem de nematóides espirurídeos, no que se refere ao contraste e visualização de estruturas. **Material e Métodos:** A técnica 1 consistiu na passagem dos nematóides por uma série alcoólica crescente, em lactofenol de Aman e creosoto por 24 h, e montagem em bálsamo do Canadá. A técnica 2 consistiu nas mesmas etapas da técnica 1, com exceção da passagem por lactofenol. Em cada técnica foram processados espécimes de *Oxyspirura mansoni*, *Habronema sp.* e *Gongylonema ingluvicola*. **Resultados:** Os espécimes de *O. mansoni* processados pela técnica 1, classificados como bons corresponderam a 80% do total e pela técnica 2, a 86%. Todos os espécimes de *G. ingluvicola* processados pela técnica 1 e 2 ficaram bons. Dos espécimes de *Habronema sp.* 72% processados pela técnica 1 e 72% pela técnica 2 foram classificados como bons. Os problemas associados aos exemplares classificados como ruins foram: parede do corpo colapsada, cápsula bucal e estruturas da cauda do macho pouco visíveis. **Conclusão:** Ambas as técnicas podem ser consideradas boas para o processamento das referidas espécies, desde que as etapas sejam realizadas com cuidado, principalmente durante a passagem do álcool absoluto para o creosoto.

P0616 BIOCONTROLE DE LARVAS INFECTANTES DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS PELO FUNGO *MONACROSPORIUM THAUMASIUM* (DRECHSLER, 1937)

*SILVA, W.W.^{1,2}; ARAÚJO, J.V.³; COSTA, L.V.⁴; BEVILAQUA, C.M.L.⁵; RODRIGUES, M.L.A.⁶.

¹Univ. Fed. de Campina Grande; ²UFRRJ-CPGCV/Parasitol.Vet. Bolsista PICDT; ³Univ. Fed. de Viçosa; ⁴EMBRAPA-Caprinos; ⁵Univ. Est. do Ceara; ⁶Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro-CPGCV;

Fungos nematófagos têm sido considerados como uma alternativa promissora para o controle de nematóides gastrintestinais de ruminantes, dentre eles a espécie *Monacrosporium thaumasium*. Objetivo: Avaliar a resistência do *M. thaumasium* a passagem pelo trato digestivo de caprinos e sua ação predatória sobre larvas infectantes na pastagem. Material e Métodos: Uma área de 20ha, livre de vermes, foi dividida em quatro piquetes de 5ha. Cada grupo foi formado por nove caprinos que receberam tratamento durante os meses de Abril a Julho: Grupo 1: Semanalmente todos os animais receberam 10g de pellets, contendo 20-25% de micélio do fungo, por via oral; Grupo 2: Quinzenalmente todos os animais receberam 10g de pellets; Grupo 3: Todos os animais receberam uma dose de 0,5ml/25Kg/PV de moxidectin (Cydectin® Fort Dodg). Grupo 4: Animais controle, não receberam nenhum tipo de tratamento. No início de cada mês dois caprinos traçadores foram introduzidos junto ao rebanho permanente por 30 dias, após esse período foram sacrificados e necropsiados. Resultados e Conclusões: O fungo *M. thaumasium* passou pelo trato digestivo dos caprinos sem perder sua capacidade predatória, nos períodos de 21 a 24 após a administração oral do fungo. O grupo de animais que receberam fungo uma vez por semana, apresentou menor número de ovos por grama de fezes (OPG); menor carga parasitária e maior ganho de peso. De acordo com os resultados, observou-se o sucesso do fungo *M. thaumasium* para controlar larvas infectantes ingeridas pelos caprinos, podendo ser utilizada no controle e profilaxia de nematóides gastrintestinais de caprinos no semi-árido paraibano.

P0618 PARASITOS ENCONTRADOS EM CORPO MUMIFICADO - SÍTIO ARQUEOLÓGICO DA LAPA DO BOQUETE, MG, BRASIL

SIANTO, L.^{1*}; ARAÚJO, A.¹; CHAME, M.²; PROUS, A.³

¹Laboratório de Paleoparasitologia ENSP/FIOCRUZ/RJ, ²Laboratório de Ecologia ENSP/FIOCRUZ/RJ, ³Mus. Hist. Nat. UFMG

O sítio arqueológico da Lapa do Boquete está situado no Vale do Peruaçu, Minas Gerais. De um corpo encontrado sepultado, parcialmente mumificado, datado de 670 anos, foram retiradas amostras de coprólito, sedimento de cavidade pélvica e de parede de cavidade abdominal para realização de exames parasitológicos.

Objetivos: Verificar a ocorrência de parasitoses no material estudado e diagnosticar as espécies de parasitas encontrados.

Materiais e métodos: Após reidratação em Na₃PO₄ por 72 horas, o material foi homogeneizado, peneirado e sedimentado. Uma média de vinte lâminas de cada amostra foi examinada em microscópio óptico (400x). Os ovos de helmintos encontrados foram medidos (mm), fotografados e comparados com dados de literatura para identificação do menor taxa possível.

Resultados e conclusões: Foram encontrados 64 ovos de helmintos, 5 da classe Nematoda família Ancylostomatidae e 59 da classe Trematoda ainda sem identificação precisa. Espera-se o diagnóstico preciso para comprovação de parasitose humana ou acidental.

P0558 ANÁLISE COMPARATIVA DE CLONES DA CEPA COLOMBIANA ISOLADOS EM DUAS FASES DIFERENTES DA INFECÇÃO

CAMANDAROBA, E.L.P.; ANDRADE, S.G.

Laboratório de doença de Chagas Experimental, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM)

Fundação Oswaldo Cruz- FIOCRUZ, Rua Waldemar Falcão, n°121,40295-001, Salvador-Bahia

Em trabalho anterior, a cepa Colombiana foi submetida a clonagem, no pico elevado da parasitemia, aos 30° dias de infecção. Foram isolados sete clones que apresentaram as características biológicas, bioquímicas, histopatológicas e quimioterápicas idênticas às da cepa parental, variando apenas na virulência dos clones. Os clones mais virulentos apresentaram formas tripomastigotas delgadas no início da infecção e mortalidade elevada. OBJETIVO: estudar clones isolados na fase precoce da infecção (10° dia), para verificar se nessa fase estariam presentes clones que fossem diferentes entre si e a cepa parental, e entre os clones anteriormente isolados. MATERIAL E MÉTODOS: foram isolados, por micromanipulação, cinco clones no 10° dia de infecção (fase aguda precoce) inoculando uma forma tripomastigota em camundongos recém-nascidos que após submetidos à passagem sucessivas em camundongos, para expansão parasitária, foram inoculados em camundongos com 10 a 16g. 25 camundongos suíços, foram inoculados com cada clone com inóculo de 1×10^4 e 1×10^5 formas tripomastigotas. Os animais foram acompanhados quanto à: parasitemia, mortalidade e morfologia das formas sangüícolas. Foram sacrificados por exsanguinação após anestesia, e o sangue coletado foi submetido à hemocultura em meio Warren para obtenção de extratos enzimáticos. Os padrões de bandas eletroforéticas das isoenzimas foram obtidas pela análise de PGM, GPI, ASAT e ALAT. RESULTADOS: da mesma maneira que os clones isolados no 30° dia, os clones isolados no 10° dia tiveram evolução idêntica à cepa parental, com diferentes graus de virulência. CONCLUSÃO: a cepa Colombiana do *Trypanosoma cruzi*, Biodema III (T.cruzi I) e os seus clones isolados no 10° e 30° dias de infecção apresentaram comportamentos homogêneos, indicando a predominância de um clone principal responsável pelas características da cepa.

P0563 TRYPANOSOMA CRUZI IN PREHISTORIC TEXAS: A PHYLOGEOGRAPHIC STUDY

K. Dittmar¹, A. Jansen², A. Araujo³, K. Reinhard⁴

¹ Brigham Young University, Department of Integrative Biology, 401 WIDB, Provo, Utah, 84602, USA

² Fundação Oswaldo Cruz, Dept. de Protozoologia, Lab. Biologia Tripanosomatideos, Pav. Carlos Chagas, Rio de Janeiro, Brazil

³ Fundação Oswaldo Cruz, Escuela de Saude Publica, Rio de Janeiro, Brazil

⁴ School of Natural Resource Sciences, University of Nebraska, Lincoln, Nebraska, USA

A few species of *Trypanosoma* are found in the New World. From the standpoint of human health, the most important is *Trypanosoma cruzi*, causing American trypanosomiasis or Chagas' disease. During an archeological survey in the Lower Pecos Region of Texas (United States of America) the remains of a prehistoric individual were recovered from a shelter. The mummified remains showed the typical pathology of the chronic form of Chagas' disease (Reinhard et al., 2003). Molecular analysis verified this result. In the course of the study the isolated DNA-sequences will be analyzed under genetic and phylogeographic aspects in order to gain knowledge about the possible origin of the strain, as well as its genetic history in general.

Reinhard K, Fink M, Skiles J 2003. A case of megacolon in the Rio Grande Valley as a possible case of Chagas' Disease, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 98(I): 165-173.

0571 ESTUDO CLÍNICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO MUNICÍPIO DE PARATY ENTRE OS ANOS DE 1991 E 1997

CONÇALVES, R.G.^{1*}; JORGE, M.E.⁴; SOUZA, W.J.S.²; PIRMEZ, C.³; DA-CRUZ, A.M.¹.

Lab. de Imunidade Celular e Humoral em Protozooses, Dept. de Imunologia; ²Dept de Protozoologia; ³Dept de Bioquímica e Biologia Molecular / IOC-FIOCRUZ, ⁴Posto de Saúde de Paraty Dr. Derlly Ellena

Leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença infecto-parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*. O município de Paraty registra o segundo maior número de casos da doença no estado do Rio de Janeiro. Neste trabalho foram estudados 71 pacientes com o diagnóstico clínico e laboratorial de LTA em Paraty entre os anos de 1991 e 1997. Todos os pacientes apresentavam lesões compatíveis com a forma cutânea da doença, não sendo registradas formas mucosas. Do total dos pacientes, 52% eram do sexo feminino e 48% masculino. A idade variou de seis meses a 73 anos, e 73% dos casos estavam incluídos na faixa etária de zero a 39. As lesões eram predominantemente ulceradas (68%), com um tempo médio de evolução de 90 dias e um diâmetro médio de $5,15 \pm 5,64$ cm². Os locais de maior acometimento do corpo foram os membros superiores (37%), membros inferiores (36%) e face (23%). Na faixa etária de zero a nove anos verificou-se que a face foi o local primário de acometimento em 62% dos casos. Quanto aos métodos diagnósticos, a intradermoreação de Montenegro foi positiva 92% de 63 pacientes. Na reação de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos específicos a *Leishmania*, a IgM foi detectada em 62% dos casos (títulos entre 1/45 a 1/90) e a IgG em 55% (títulos de 1/45 a 1/180). A cultura em NNN de amostras das lesões foi positiva em 22 (79%) dos 28 estudados. A impressão em lâmina foi realizada em 28 amostras, com visualização de formas amastigotas em apenas três. Os parasitos foram caracterizados por testes de anticorpos monoclonais e isoenzimas como *L. braziliensis* em sete pacientes e em seis casos foi possível incluí-los no subgênero *Viannia* pela técnica de PCR. **Conclusões:** Estes resultados são pioneiros em demonstrar as características clínicas da LTA em Paraty, indicando um perfil similar ao de outras áreas endêmicas no Estado do Rio de Janeiro. Estes elementos podem contribuir para o melhoramento do diagnóstico e tratamento da doença na região.

0573 PALEOPARASITOLOGIA DA TOXOPLASMOSE: ESTUDO DA APLICAÇÃO DA PCR EM MAMÍFEROS MUMIFICADOS

ARAÚJO, M.B.L.*; BELLO, A.R.²; BASTOS, O.M.P.³; AMENDOEIRA, M.R.R.¹; COELHO, J.M.C.O.¹; ARAÚJO, A.J.G.¹.
¹INSTITUTO DE PESQUISA EM PATOLOGIA, ²UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO DE JANEIRO, ³UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE.

Objetivos: Este estudo buscou otimizar a técnica da PCR para a detecção de DNA de *Toxoplasma gondii* em mamíferos experimentalmente mumificados e estudar sua aplicação ao diagnóstico da infecção em material arqueológico. **Material e Métodos:** Encéfalos, corações, pulmões, fígados e musculatura da coxa, retirados de camundongos em infecção aguda (GIA) e crônica (GIC) da infecção, inóculados por via intraperitoneal com duas cepas de *T. gondii*, mantidos em estufa a 39°C por 45 dias, visando o máximo de dessecação. O DNA foi extraído pelo método de Chelex-100 e amplificado pela PCR utilizando-se "primers" para o gene B1 do parasito. Paralelamente, realizou-se estudo imuno-histoquímico, para mapeamento parasitário em cortes teciduais de camundongos infectados. **Resultados e Discussão:** A PCR recuperou o DNA de *T. gondii* em 50% das amostras do GIA e em 75% do GIC. Observou-se alta positividade pela PCR em musculatura de coxas, encéfalos, corações e pulmões, entretanto, o estudo imuno-histoquímico apontou maior prevalência apenas em encéfalos. O GIA obteve maior positividade pela PCR em pulmões, corações e fígados, concordando com o estudo imuno-histoquímico. Com base nos resultados, concluiu-se a utilização desta abordagem molecular na pesquisa da toxoplasmose em populações do passado.