

Resumo

No Brasil, dentre as medidas de controle preconizadas pelo Ministério da Saúde para controle da Leishmaniose visceral, a identificação de cães positivos para leishmaniose visceral canina (LVC), é recomendada, integradas com outras, visto ser este animal um dos principais elos da cadeia epidemiológica. Os métodos sorológicos utilizados para identificação dos animais, não são 100% eficazes que pode comprometer esta medida de controle. Visando à padronização de um antígeno que permita separar de maneira adequada animais acometidos ou não pela LVC, cento e três animais oriundos do Centro de Controle de Zoonoses da cidade de Betim foram categorizados como positivos ou negativos para LVC através de testes parasitológicos e sorológicos, resultando em cinquenta e quatro positivos e quarenta e nove negativos para esta patologia. Estes animais foram doadores de soro para os ensaios de padronização de um antígeno para o teste de ELISA. Duas cepas de *Leishmania (L.) chagasi*, BH46 e BH400, isoladas de paciente humano e canino respectivamente, e uma cepa de *Leishmania (L.) amazonensis*, BH6, isolada de paciente humano foram cultivadas em meio LIT e Alfa-MEM e as massas antigênicas utilizadas para preparar antígenos para sensibilização de placas de ELISA e lâminas de RIFI, assim como para obtenção de um extrato antigênico a ser utilizado na eletroforese em gel bidimensional seguida de Immunoblotting. As placas de ELISA foram testadas com 24 horas, 3 meses e 6 meses de armazenamento em freezer a -20°C. As lâminas de RIFI foram armazenadas da mesma forma e utilizadas após 30 dias. Em todas as fases foram determinados para ELISA e para RIFI, os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e índice de concordância de Youden. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos com os kits de ELISA e RIFI de Biomanguinhos. A cepa BH400, independente do meio de crescimento, foi a que apresentou melhor desempenho em caracterizar corretamente animais positivos e negativos. Esta cepa mostrou, durante o experimento, valores de sensibilidade e especificidade entre 98-100%, valor preditivo positivo de 100%, valor preditivo negativo entre 98-100% e índice de concordância de Youden de 98-100%. Houve reação cruzada com soros de cães com *Trypanosoma cruzi* e com Leishmaniose tegumentar, mas o antígeno não apresentou reação cruzada com *Babesia canis* e *Ehrlichia canis*. O meio Alfa-MEM foi escolhido para cultivo desta cepa e caracterização do perfil proteômico-imunogênico, devido à facilidade de obtenção comercial e preparo do mesmo. O Immunoblotting foi

realizado com pool de soros de alto e baixo títulos de anticorpos e pool de soros negativos, e revelou mais de cinquenta “spots” reativos sem reação com soros negativos, mostrando alta imunogenicidade do antígeno. No gel bidimensional foram localizados 37 “spots” que poderão futuramente ser identificados por espectrometria de massa, visando obtenção de proteínas que possam ser utilizadas como antígenos para ELISA e conferir aumento da sensibilidade e especificidade deste teste.