

JORNADA JOVENS TALENTOS

LIVRO DE RESUMOS | 2015

Jornada
JOVENS
TALENTOS



Semana da
PÓS-GRADUAÇÃO
Stricto sensu

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

IOC 115
Instituto Oswaldo Cruz
1900 • 2015

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

JORNADA JOVENS TALENTOS

LIVRO DE RESUMOS | 2015

Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

Paulo Gadelha
Presidente

Valcler Rangel Fernandes
Vice-Presidência de Ambiente, Atenção e Promoção da Saúde

Nísia Trindade Lima
Vice-Presidência de Ensino, Informação e Comunicação

Pedro Ribeiro Barbosa
Vice-Presidência de Gestão e Desenvolvimento Institucional

Rodrigo Stabeli
Vice-presidência de Pesquisa e Laboratórios de Referência

Jorge Antonio Zepeda Bermudez
Vice-Presidência de Produção e Inovação em Saúde

Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz)

Wilson Savino
Diretor

Valber da Silva Frutuoso
Vice-direção de Desenvolvimento Institucional e Gestão

Elisa Cupolillo
Vice-direção de Ensino, Informação e Comunicação

Hugo Caire de Castro Faria Neto
Vice-direção de Pesquisa, Desenvolvimento Tecnológico e Inovação

Eliane Veiga Costa
Vice-direção de Serviços de Referência e Coleções Biológicas

Este livro de resumos é referente à Jornada Jovens Talentos, realizada nos dias 03 e 04 de setembro de 2015, durante a Semana da Pós-graduação Stricto sensu do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), no Auditório Emmanuel Dias, Pav. Arthur Neiva, no campus da Fiocruz, no Rio de Janeiro.

APRESENTAÇÃO

Passar os olhos pelos títulos dos trabalhos apresentados neste livro já nos faz perceber a diversidade e o talento presentes em nossos Programas de Pós-graduação. E é justamente para comprovar e divulgar a qualidade das atividades desenvolvidas pelos estudantes do Instituto Oswaldo Cruz, que idealizamos a Jornada Jovens Talentos.

Voltada exclusivamente para os alunos de mestrado e doutorado, esta Jornada também cumpre o objetivo de disseminar e contribuir para a difusão dos conhecimentos científicos resultantes do desenvolvimento dos projetos de pesquisa que são desenvolvidos nos nossos programas de pós-graduação.

Dos resumos inseridos neste livro, cumprimos a difícil tarefa de selecionar 16 para participar das quatro sessões de apresentações orais, que acontecerão ao longo dos dias 03 e 04 de setembro. Os demais trabalhos serão expostos em pôsteres distribuídos pelo Pavilhão Arthur Neiva durante a realização da Semana.

Agradecemos a todos que ajudaram a transformar esta ideia em realidade.

Elisa Cupolillo

Vice-diretora de Ensino, Informação e Comunicação do IOC

AVALIAÇÃO DAS LEISHMANIOSES EM COMUNIDADES INSERIDAS NO PARQUE ESTADUAL DA SERRA DA TIRIRICA, RJ, BRASIL

Rodrigues AAF, Delmondes AFS, Barbosa VA, Marra FA, Brazil RP

andressafuzari@gmail.com

Laboratório de Doenças Parasitárias

A região oceânica de Niterói (RJ), a partir dos anos 70, vem sofrendo um processo de impacto ambiental intenso e a ocorrência esporádica de casos humanos e caninos de leishmaniose tegumentar americana tem sido associada com a ocupação humana próximo às encostas da Serra da Tiririca. O Parque Estadual da Serra da Tiririca inserido entre os municípios de Niterói e Maricá (RJ), área de preservação recentemente criada, representa uma das poucas áreas com resíduos de mata atlântica tão próxima da área urbana. As leishmanioses, doenças com diversas manifestações clínicas, causadas por protozoários flagelados do gênero *Leishmania*, é transmitida pelos flebotomíneos, pequenos insetos pertencentes à ordem Diptera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. No Brasil, as leishmanioses tegumentar e visceral são, cada vez mais, doenças periurbana; nesses ambientes, a falta de saneamento e coleta de lixo esporádica ou inexistente favorece o aumento dos criadouros dos flebotomíneos o que aumenta o risco da doença. Dentro do Projeto Brasil sem Miséria, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os aspectos epidemiológicos das leishmanioses e a vulnerabilidade das comunidades carentes a essa doença dentro da área do Parque Estadual da Serra da Tiririca, através da pesquisa da fonte alimentar, infecção natural e avaliação dos animais sinantrópicos. Foram realizadas doze coletas, no período de junho de 2013 a junho de 2014, em ambiente silvestre e peridomiciliar. Os insetos foram capturados com a utilização de armadilhas luminosas HP (tipo CDC) por um período de 48 horas, totalizando 576 horas em cada armadilha. Foram coletados 831 flebotomíneos, sendo 402 machos (48%) e 429 fêmeas (52%), de 8 gêneros e 13 espécies: *Evandromyia tupynambai* (32,2%), *Micropygomyia schreiberi* (21,9%), *Migonemyia migonei* (16,7%), *Brumptomyia cunhai* (8,6%), *Br. nitzulescui* (6,9%), *Ev. edwardsi* (3,2%), *Lutzomyia longipalpis* (2,5%), *Psathyromyia pelloni* (2,2%), *Pintomyia bianchigalatae* (0,2%), *Pi. fischeri* (0,2%), *Ny. intermedia* (0,2%), *Ev. cortelezzii* (0,2%), *Mi. quinquefer* (0,2%). Destas, *Mi. migonei*, *Ny. intermedia* e *Lu. longipalpis* já foram consideradas como vetoras das leishmanioses. Neste trabalho, houve um aumento do número *Lu. longipalpis*, sugerindo a possibilidade de uma população silvestre deste inseto.

AValiação DA UTILIZAÇÃO DE ENSAIO IMUNOCROMATOGRÁFICO PARA O DIAGNÓSTICO E ESTUDO DE PREVALÊNCIA DA HEPATITE A

Ribeiro CRA, Amado LA, Santos RT, Lima LR, Melgaço J, De Almeida AJ, Ximenez LLL, De Paula VS

camilla_almeida@hotmail.com

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia

A infecção pelo vírus da hepatite A (HAV) é um importante problema de saúde pública mundial. O Brasil tem atualmente uma taxa de incidência intermediária de hepatite A, a queda na incidência da doença no país tem sido atribuída a melhorias recentes em saneamento. Como resultado desta queda, o número de adultos suscetíveis tem aumentado, levando a um maior risco de surtos e aumento da morbidade e mortalidade da doença. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência e eficácia de um teste imunoenzimático comercial para diagnóstico e estudos de prevalência de hepatite A. Para isto, foram avaliados parâmetros como a sensibilidade, especificidade, valores preditivo positivo e negativo, reprodutibilidade e repetitividade do teste rápido para detecção de anti-HAV IgM e anti-HAV IgG em amostras de soro previamente reagentes e não reagentes. Amostras de pacientes (n= 342) de diferentes grupos, provenientes de doadores de sangue, pacientes vacinados para hepatite A, surtos e casos esporádicos foram submetidas ao teste rápido SD BIOLINE HAV IgG/IgM (Standard Diagnostics,Corea), sendo todos os resultados comparados com os do teste imunoenzimático (ELISA), que é padrão ouro para o diagnóstico sorológico da hepatite A. O limite de detecção do teste rápido para anticorpos Anti-HAV IgG foi de 102 e do ELISA foi de 1010 e para anticorpos Anti-HAV IgM o teste rápido demonstrou limites de detecção de 103 e o ELISA de 102, o teste rápido não demonstrou reatividade cruzada com anticorpos provenientes de outros agentes infecciosos. Os níveis de concordância utilizando o índice Kappa (k) foram considerados de fracos a bons nos grupos testados para o marcador IgG e de excelentes a bons para os grupos testados com IgM. A sensibilidade e a especificidade do teste rápido para detecção de anti-HAV IgM foi de 94,74% e 99,05% e para anti-HAV IgG foi de 69,61% e 66,30%, respectivamente. Estabelecer os padrões necessários para a avaliação do desempenho dos testes rápidos para a detecção da hepatite A é de grande importância, pois permite o rápido acesso aos resultados principalmente em surtos, facilitando o diagnóstico e a identificação dos indivíduos suscetíveis que podem ser encaminhados para a vacinação, auxiliando no controle da doença. Comprovamos que o teste mostrou ser adequado para o diagnóstico da hepatite A em casos de surtos e casos esporádicos para detecção de anticorpos IgM, porém para detecção de infecção passada e resposta vacinal o teste precisa ser aprimorado.

DETERMINANTES SOCIAIS DA DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DOS CASOS DE DENGUE NA FAIXA FRONTEIRIÇA DO BRASIL

Carvajal JJ, Honorio NA, Gerusa G, Peiter P

jjcarvajalc166@gmail.com

Laboratório de Doenças Parasitárias

O presente estudo busca identificar os determinantes sociais da distribuição espacial do dengue nas fronteiras do Brasil. Foram realizadas análises descritivas e inferenciais de diferentes indicadores socioeconômicos, bem como da incidência do dengue por município, discriminados pelos níveis de organização da fronteira internacional: faixa de fronteira, linha de fronteira e cidades gêmeas. Foram utilizados métodos bayesianos empíricos e o coeficiente de correlação de Spearman para as análises espaciais. No nível de país e faixa de fronteira, se encontraram associações da incidência de dengue com a condição laboral. Na linha de fronteira foram encontradas associações com a pobreza, o acesso à serviços de educação e saneamento, e por último, nas cidades gêmeas com a desigualdade da renda, a pobreza, a mobilidade e o acesso aos serviços de educação e saneamento. Os achados apontam a existência de diferenças entre os determinantes sociais estudados do dengue com os diferentes níveis de organização espacial da faixa de fronteira internacional, bem como discrepâncias quanto ao acesso da população à serviços sociais básicos, o nível de instrução e a vulnerabilidade à pobreza, os quais foram relacionados com a incidência de dengue e a proximidade dos municípios à fronteira internacional.

AUMENTO DAS CONTAGENS DE CÉLULAS T CD4⁺ E DIMINUIÇÃO DA ATIVAÇÃO CELULAR SÃO OBSERVADOS EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV COM UM ÚNICO EPISÓDIO DE LEISHMANIOSE VISCERAL, MAS NÃO NAQUELES COM FREQUENTES RECIDIVAS.

De Freitas MLS, Lins PLD, Cota G, Gripp CG, Rabello A, Da Cruz AM, De Oliveira JRS

mluciana@id.uff.br

Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas

A ativação imune crônica e a depleção linfocitária são marcantes na infecção pelo HIV e pela *Leishmania infantum*. Previamente, a infecção por *Leishmania* foi apontada como um cofator para a potencialização do status de ativação em pacientes LV/HIV, apesar da terapia antirretroviral (ART) e do tratamento (tto) anti-*Leishmania*. Tal ativação tem sido associada com a exaustão do sistema imune em pacientes HIV⁺ e pode contribuir para as frequentes recidivas de LV. Assim, é importante investigar se a manutenção do tto anti-*Leishmania* combinado à ART é capaz de diminuir os níveis de ativação e, consequentemente, reduzir o número de recidivas da LV. Avaliar se pacientes LV/HIV com um único episódio de LV ao longo da vida apresentavam diferenças qualitativas e quantitativas na resposta efetora de linfócitos T em comparação àqueles com frequentes recidivas. Os pacientes foram agrupados em: Não-recidivantes (NR;n=6) e Recidivantes (R;n=11). Ambos os grupos foram seguidos da fase ativa até 12 meses pós-tratamento (mpt). Eles estavam sob ART e em uso de profilaxia secundária com anfotericina B (50mg/quinzenal), desde o final do tto da LV. Indivíduos saudáveis foram incluídos. As contagens de TCD4⁺, grau de ativação (CD38⁺HLA-DR⁺), imunosenescência (CD57⁺CD27⁻), níveis de CD14 solúvel e anticorpos anti-*Leishmania* foram avaliados. Durante a fase ativa da LV, ambos os grupos apresentaram níveis similares de todos os parâmetros avaliados. Entretanto, nos períodos de 6 e 12 mpt, o NR mostrou um ganho significativo de células TCD4⁺ comparado ao R. Em 12 mpt, o grupo R apresentou % mais elevados de células TCD4⁺ ($p<0,0001$) e TCD8⁺ ($p<0,01$) ativadas, bem como níveis elevados de sCD14 ($p<0,05$), sugerindo um persistente grau de ativação imune. A carga viral permaneceu baixa ou indetectável sem correlação com a ativação. Ambos os grupos apresentaram % similares de células TCD4⁺ e TCD8⁺ senescentes, porém mais elevados do que os controles de mesma idade ($p<0,05$). Em adição, altos níveis de IgG1 e IgG3 anti-*Leishmania* foram observados no grupo R, sobretudo de IgG3. Uma correlação negativa foi encontrada entre os níveis de ativação em TCD8⁺ e as contagens de TCD4⁺, que também se correlacionou negativamente com o sCD14. A menor capacidade do grupo R em reduzir os níveis de ativação celular em comparação ao NR, pode estar relacionada a algum prejuízo funcional da resposta efetora que foi decaindo a cada episódio de recidiva. Além disso, a profilaxia secundária parece modificar a história natural dos pacientes coinfectados que estão experienciando o primeiro episódio da doença, ao contrário daqueles que já apresentam várias recidivas.

O PAPEL DOS ADIPÓCITOS NA INFECÇÃO, MODULAÇÃO IMUNE E PERSISTÊNCIA DO *Mycobacterium leprae*

Alves S, Silva SA, Liechocki S, Pascarelli BMO, Nery JAC, Sarno EN, Maya-Monteiro CM, De Macedo CS, Rosa PS, Gandini M, Pessolani MCV, Lara FA

sabrina.alvesreis@yahoo.com.br

Laboratório de Microbiologia Celular

A Hanseníase, uma doença infecciosa crônica sistêmica que afeta principalmente a pele e os nervos periféricos, é causada pelo *Mycobacterium leprae*. Atualmente, o Sudão do Sul e o Brasil são os países que lideram o ranking de prevalência da doença. Estudos têm demonstrado a importância de lipídios dos hospedeiros para sobrevivência do *M. leprae*. Apesar da profunda compreensão dos mecanismos envolvidos, não há nenhuma investigação sobre a interação de micobactérias com adipócitos, células especializadas na homeostasia lipídica do organismo. Aqui, nós investigamos os efeitos da infecção por *M. leprae* e sua possível persistência nestas células. Fibroblastos murinos 3T3-L1 foram diferenciados a adipócitos em meio DMEM high glicose contendo 10% de soro fetal bovino (SFB), 0,5 mM de 3-isobutil-metilxantina, 1 uM de dexametasona, 2µM de rosiglitazona e 0,3 UI / mL de insulina. Após 3 dias, o meio foi substituído por meio DMEM mais SFB a 10% contendo apenas 2µM de rosiglitazona e 0,3 UI / mL de insulina até o dia 10, em seguida, as células foram infectadas por *M. leprae*. A taxa de infecção foi medida, bem como a sua viabilidade no interior das células através da detecção de níveis de RNA do gene 16S e o comportamento das células infectadas analisado. Detectamos bacilos em biópsias de tecido adiposo subcutâneo de pacientes multibacilares, confirmando a presença de micobactérias intactas associadas a adipócitos in vivo. Analisamos também alterações na homeostase de lipídios e na produção de adipocinas in vitro. Nossos resultados demonstram que os bacilos permanecem viáveis em adipócitos 3T3-L1 por até 25 dias. Observou-se um aumento na expressão de IL-10 e TNF-α, enquanto os níveis de IL-6 não foi alterado em células infectadas, sugerindo um perfil de modulação imunossupressora durante a infecção. Finalmente, foi observado por microscopia de fluorescência mudanças no perfil de lipídeos indicando a indução de lipólise em culturas infectadas por *M. leprae*. Nossas investigações sugerem que o tecido adiposo pode funcionar como um novo nicho para persistência de *M. leprae*, abrindo novos paradigmas para a descrição dos efeitos imunopatológicos, cronicidade e tratamento da doença.

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO COM BENZONIDAZOL EM DIFERENTES GÊNEROS NO MODELO EXPERIMENTAL MURINO INFECTADO PELO *Trypanosoma cruzi*

**Guedes-da-Silva FH, Batista DGJ, França CF, Rocha MS, Araújo JS,
Moreira OC, Britto C, Lepesheva GL, Soeiro MNC**

hildemagnaguedes@hotmail.com

Laboratório de Biologia Celular

O benzonidazol e nifurtimox são as únicas alternativas para o tratamento da doença de Chagas (CD). Entretanto, ambos apresentam diversas limitações largamente insatisfatórias. Assim, são necessárias terapias alternativas mais seguras e eficientes. Recentemente, duas drogas antifúngicas, posaconazol e EI224 (o pró-fármaco do ravuconazol), foram avaliados como potenciais drogas antichagásicas em pacientes crônicos, mas infelizmente ambos exibiram elevadas taxas de falha terapêutica (70-80%). Tem sido sugerido que pelo menos parte desta falha inesperada pode ser devido à falta de translação dos modelos *in vitro* e *in vivo* para a triagem clínica e que novas estratégias durante o processo de *screening* de drogas devem ser consideradas. Avaliar os efeitos e resultados do tratamento com benzonidazol usando diferentes gêneros no modelo de camundongo na infecção pelo *T. cruzi*, e ainda avaliar diferentes esquemas de administração do medicamento (preventivo - início da terapia em 1º dia pós infecção (dpi) e terapêutico - a partir do 6º dpi). Nossos resultados confirmam dados anteriores demonstrando que os camundongos do sexo feminino são menos vulneráveis à infecção pelo *T. cruzi* do que os machos, que são menos suscetíveis ao efeito anti-parasitário do benzonidazol. Nosso estudo visa contribuir para o desenvolvimento de metodologias mais confiáveis para a triagem de novos compostos anti-*T. cruzi* nos ensaios *in vivo* da doença de Chagas experimental.

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA VACINA LACK DNA EM PROTOCOLOS PRIME BOOST HOMÓLOGO E HETERÓLOGO CONTRA A INFECÇÃO POR *Leishmania (Viannia) braziliensis* NO MODELO HAMSTER

Saavedra AF, Couto LS, Ribeiro-Romão RP, Moreira OC, Da-Cruz AM, Rossi-Bergmann B, Pinto EF

andrea@saavedra@gmail.com

Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas

Estudos anteriores no modelo murino demonstraram a possibilidade de indução de proteção através da imunização por via mucosa, tanto com antígenos brutos (lisado total de promastigotas de *Leishmania amazonensis* - LaAg) como através de vacina de DNA (DNA plasmídeo com o gene que codifica a proteína LACK - LACK DNA), contra a leishmaniose cutânea (LC) causada por *L. amazonensis*, e a leishmaniose visceral causada por *L. infantum*. No entanto, estudos de vacinação contra as espécies do subgênero *Viannia* são dificultados devido à falta de modelos experimentais que reproduzam a doença humana. Recentemente foi demonstrado que o hamster dourado é um modelo adequado para o estudo da imunopatogênese da leishmaniose cutânea causada por *L. (V.) braziliensis* e que o antígeno LaAg administrado por via intranasal induziu proteção contra a infecção por *L. (V.) braziliensis* no modelo. Entretanto, as abordagens imunológicas e moleculares para os estudos no modelo são limitadas pela pouca disponibilidade de insumos disponíveis. Nesse trabalho, utilizamos um ensaio de RT-qPCR para avaliação da resposta imune em pele de hamsters, pela expressão gênica de IFN- γ , TGF- β , TNF, IL-10, IL-4, IL-6, iNOS e arginase, e investigamos o efeito protetor da imunização intranasal com a vacina gênica LACK DNA administrada em protocolos prime-boost homólogo (50 μ g/dose) e heterólogo (LACK DNA-50 μ g/LaAg-10 μ g) contra *L. braziliensis*. Os resultados demonstraram que a imunização com LACK DNA em prime boost homólogo não induziu proteção contra infecção por *L. braziliensis* no modelo hamster, uma vez que não foi observada diferença significativa no tamanho da lesão, na carga parasitária, e nos níveis de IgG e IgG2 anti-*Leishmania* 110 dias após a infecção, comparados aos grupos controles (PBS e DNA). O protocolo prime-boost heterólogo induziu redução no crescimento da lesão, acompanhado pela redução de IgG anti-*Leishmania*. Os animais considerados protegidos (lesão < 0,50mm) apresentaram níveis de expressão gênica de IFN- γ , TNF, iNOS, IL-10, TGF- β e arginase na pata similar a uma pele não infectada, utilizada como calibrador da reação, enquanto que os animais considerados não protegidos apresentaram níveis de expressão de RNAm destes mesmos alvos comparáveis aos dos animais do grupo controle infectado. Os resultados demonstraram que o uso do protocolo prime-boost heterólogo é uma estratégia pode ser promissora na busca de uma vacina eficaz contra infecção por *L. (V.) braziliensis* no modelo hamster.

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO HERBICIDA ROUNDUP SOBRE AS FASES LARVAIS E HELMINTOS ADULTOS DE *Echinostoma paraensei* (Trematoda:Echinostomatidae)

Monte T, Braga BV, Garcia J, Vasconcellos MC, Barbosa HS, Maldonado Júnior A

tainamonte@gmail.com

Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios

Echinostoma paraensei é um trematódeo digenético e seu estágio adulto parasita o intestino delgado de mamíferos. Este trematódeo vem sendo utilizado como modelo de estudo visando elucidar diversos aspectos da relação parasito-hospedeiro e sua adoção como modelo decorre em parte do fato de seu ciclo de vida ser de fácil reprodução em condições laboratoriais. Tem se verificado que insumos agrícolas podem atuar nos ecossistemas e influenciar na dinâmica de transmissão de parasitos. Os herbicidas são a classe de agrotóxicos mais comercializados no Brasil e o glifosato, cuja a principal formulação comercial é o “RoundUp®”, apresenta estudos evidenciando seus danos, embora seja considerado menos tóxico do que outros herbicidas. Para obtenção de larvas, foi realizado o desencistamento químico de metacercárias em meio de cultura alcalino contendo tripsina e sais de bile, em solução salina balanceada de Earle, pH 8,0 a 37°C e 5% de CO₂ por duas horas. Quatro hamsters foram infectados experimentalmente com 50 metacercárias via orogástrica. Após 7 e 14 dias de infecção, dois hamsters em cada semana foram eutanasiados em câmara de CO₂ e necropsiados para a recuperação dos helmintos. As larvas recém-desencistadas e helmintos recuperados foram lavados em solução de Locke e transferidos para o meio de cultura RPMI 1640. Os espécimes foram expostos as concentrações de 900 mg/L, 450 mg/L e 225 mg/L “RoundUp®” e avaliados quanto a sua mortalidade em intervalos de tempo que variaram entre 2 e 24 horas. Entre 2-3 horas de exposição os espécimes foram retirados, lavados em solução Locke e fixados para Microscopia Eletrônica de Varredura e Transmissão. A mortalidade dos espécimes foi tempo e dose dependentes. A concentração de 900 mg/L apresentou 100% de mortalidade em 3 horas de exposição para as larvas e helmintos de 7 dias, enquanto que para os helmintos de 14 dias não foi observada 100% de mortalidade em todo o período de exposição. Na concentração de 450 mg/L, mais de 50% de mortalidade foi observada para as larvas e helmintos de 7 dias em 6 horas de exposição, com as larvas apresentando 100% de mortalidade em 12 horas, enquanto que os helmintos de 7 e 14 dias não apresentaram mortalidade total no final do período de exposição. Nenhuma dos espécimes apresentou mortalidade até 12 horas de exposição a concentração de 225 mg/L. As larvas e helmintos de 7 dias apresentaram comportamento semelhante nas diferentes concentrações.

TAXONOMIA INTEGRATIVA DO FILO Acanthocephala DE MAMÍFEROS DO BRASIL

Gomes APN, Olifiers N, Maldonado Júnior A

apngomes@yahoo.com.br

Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios

Dentre os helmintos parasitos, os do Filo Acanthocephala são particularmente pouco estudados e muitas das espécies já identificadas precisam ter suas descrições revisadas e complementadas. Da mesma forma, a história evolutiva das espécies dentro do filo ainda é pouco conhecida. O filo Acanthocephala é atualmente estruturado em três classes: Archiacanthocephala, Palaeacanthocephala e Eoacanthocephala. Análises filogenéticas baseadas tanto em caracteres morfológicos quanto molecular utilizando a sequência do gene 18S ribossomal tem sido utilizada para examinar questões evolutivas e ecológicas do grupo. Entretanto, dados da relação filogenética entre as espécies das diferentes classes de Acanthocephala, considerando os diferentes hospedeiros - intermediários e definitivos ainda são escassos, principalmente se considerarmos os com ocorrência no Brasil. O objetivo deste projeto é fazer a descrição morfológica dos acantocéfalos de mamíferos brasileiros que fazem parte do acervo helmintológico do LABPMR coletados em diferentes biomas brasileiros, e investigar a relação filogenética entre essas espécies e as de outras localidades do mundo depositadas no GeneBank. Para tal, os acantocéfalos serão descritos através de características morfológicas e morfométricas por microscopia de luz e de varredura. Ainda, será feita a caracterização molecular destas espécies com a sequência do gene 18S ribossomal e COI mitocondrial. O trabalho contribuirá para o conhecimento da fauna helmintológica de mamíferos brasileiros, gerando dados sobre a filogenia e evolução dos acantocéfalos oferecendo informações para auxiliar nos estudos em parasitologia e preservação de animais silvestres no Brasil.

A INFLUÊNCIA DOS CICLOS DE TEMPERATURA NA SINCRONIZAÇÃO DO RELÓGIO CIRCADIANO E AMPLITUDE DE ATIVIDADE DO MOSQUITO *Aedes aegypti*

Teles-de-Freitas R, Bruno R

rayane.freitas@ioc.fiocruz.br

Biologia Molecular de Insetos

Mosquitos apresentam ritmos de atividade locomotora e alimentação sanguínea, que são cruciais para a transmissão de diversos patógenos e estão sob o controle de um relógio circadiano endógeno. Estímulos externos exercem uma importante modulação neste relógio, possibilitando o ajuste das funções endógenas com o ambiente. Um dos principais indicadores ambientais capaz de sincronizar o relógio circadiano são os ciclos de temperatura. Em laboratório, pesquisas no modelo *Drosophila melanogaster* vêm mostrando que ciclos de temperatura retangulares (com mudanças abruptas de temperatura) produzem um perfil de atividade diferente de ciclos com variações de temperatura graduais mais próximas ao natural. Assim, procuramos estabelecer um regime seminatural que fosse o mais próximo possível das variações diárias de temperatura ao longo de um dia no Rio de Janeiro. Escolhemos como modelo o mosquito *Aedes aegypti*. Essa espécie é conhecida por apresentar hábitos diurnos com picos de atividade durante o amanhecer e o crepúsculo. Os ciclos de temperatura graduais que produzimos foram capazes de sincronizar a atividade de *Ae. aegypti* com um perfil diferente do que era observado em ciclos de temperatura retangulares. Na presença dos ciclos de claro/escuro, os ciclos temperatura graduais foram determinantes para amplitude dos picos de atividade e fase do pico principal (pico vespertino). As alterações nos padrões de comportamento parecem refletir alterações moleculares na expressão de genes que compõem o relógio circadiano. Possivelmente os genes da primeira alça seriam importantes para a amplitude, enquanto genes da segunda alça participariam do ajuste de fase do pico principal. Nossos resultados sugerem ainda que os ciclos de temperatura sincronizem o relógio através dos órgãos cordotonais. Isso porque mosquitos silenciados por RNAi para um gene importante no funcionamento dessas estruturas (noite) apresentaram prejuízos na sincronização pelos ciclos de temperatura. Assim, concluímos que os ciclos de temperatura graduais que construímos são eficientes para a sincronização de *Ae. aegypti* e possivelmente poderão contribuir nos estudos de comportamento, permitindo em laboratório uma abordagem mais próxima ao natural. A utilização dos ciclos de temperatura graduais confirma a atuação desse indicador ambiental em sinergia com os ciclos de claro/escuro na promoção da completa sincronização dos ritmos de atividade e expressão circadiana dos organismos.

VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA, MORFOMETRIA CLÁSSICA E ONTOGENÉTICA DE TRIATOMÍNEOS EM QUATRO MUNICÍPIOS DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL ASSOCIADO A AÇÕES EDUCATIVAS NA PREVENÇÃO DA DOENÇA DE CHAGAS

Lima N, De Oliveira ML, De Almeida MC, De La Fuente ALC, Mallet J

nathanielly@gmail.com

Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera

A doença de Chagas, afeta cerca de 12 milhões de pessoas nas Américas, é conhecida como “doença infecciosa relacionada à pobreza”. Eram conhecidas 33 espécies de barbeiros, atualmente a subfamília Triatominae é composta por 145 espécies. Entre as espécies silvestres, ocorrem as de importância epidemiológica como *T. rubrovaria*. A determinação da taxa de infecção pelo *T. cruzi* nos triatomíneos coletados em regiões do Brasil com diferentes índices de endemidade é relevante para o melhor conhecimento da epidemiologia da doença de Chagas. Objetivo: Identificar através das técnicas de PCR, o índice de infecção natural por *T. cruzi* em triatomíneos capturados nos municípios de Caçapava do Sul, Cachoeira do Sul, Canguçu e Encruzilhada do Sul, do RS, além de realizar um estudo multidisciplinar das populações de triatomíneos e do parasito *T. cruzi*, e implementar ações educativas para informar a população e profissionais de saúde sobre a prevenção da doença de Chagas. Para as ações educativas foram realizados questionários sobre o conhecimento do triatomíneo. As coletas dos triatomíneos tiveram a colaboração de Agentes de Saúde. Os insetos foram procurados pelo método de busca ativa nos ambientes doméstico e silvestre. Para a realização do PCR quantitativo, após dissecar o intestino, o DNA é extraído por QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN). Tendo resultado positivo para *T. cruzi*. Aplicamos 74 questionários, 90% dos entrevistados reconhece um triatomíneo adulto. Cerca de 70% conhecem a doença de Chagas e mais de 70% sabem que o inseticida evita o barbeiro. Mais de 60% não conhecem a transmissão da doença. A estatística indica *T. circummaculata* como a menor espécie dentre as três estudadas. Na cabeça, a variável que apresentou maior variabilidade foi AC. As mensurações do corpo e pronoto apresentaram as maiores médias em *T. rubrovaria*. Foi realizado o diagnóstico molecular em 116 insetos dentre os municípios estudados. Em Canguçu e Lavras do Sul, observou-se resultado positivo para *T. cruzi* em 1 e 4 espécimes, respectivamente. Evidenciou-se dimorfismo sexual nas três espécies; as variáveis morfométricas que apresentaram maior variabilidade foram CTC, LA, CP e LP; a taxa de positividade natural por *T. cruzi* nos insetos coletados por PCR convencional foi de 2,3%; a taxa total de infecção natural por *T. cruzi* em triatomíneos foi de 14/265 (5,3%); as pessoas entrevistadas em sua maioria reconhecem o triatomíneo adulto, mas não a ninfa.

VARIÁVEIS AMBIENTAIS ASSOCIADAS À PRESENÇA DE *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (diptera:Psychodidae:Phlebotominae), E DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NOS ESTADOS DA AMAZÔNIA LEGAL, BRASIL

Da Costa SM, Neves QF, Magalhães MAFM, Rangel EF

scosta@ioc.fiocruz.br

Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Diptera e Hemiptera

Doenças veiculadas por vetores tais como as leishmanioses, mais comuns em países tropicais, estão dentre aquelas de maior impacto sobre a saúde humana em função de alterações ambientais, determinadas pelo homem, aliados a diferentes aspectos da ecologia do vetor, parasita e reservatório. Neste modelo, a região da Amazônia Legal é essencialmente interessante por estar passando por um processo acelerado de ocupação, que nas últimas décadas ocasionou o desmatamento de cerca de 10% de sua área. Além disso, a região apresenta uma diversidade biológica dos potenciais vetores, parasitas e reservatórios, que podem permitir a circulação simpátrica de várias espécies de *Leishmania*. Nestas áreas, *L. (N.) whitmani* é o principal vetor da doença, por ser encontrado em todos os ecótopos, transmitindo *Leishmania (Viannia) braziliensis* e *L. (V.) shawi*. Sendo assim o objetivo do trabalho foi avaliar o impacto das mudanças no uso e cobertura do solo em associação com os casos de LTA e a distribuição espacial de *L. (N.) whitmani* nos municípios da Amazônia Legal. Os casos de LTA de 2003 a 2013 e dos municípios com registros de *L. (N.) whitmani* foram compilados dos artigos científicos, capítulos de livros, banco de teses CAPES, SINAN e informações disponibilizadas pelas Secretarias de Estado da Saúde. A integração destes dados foi feita SIG, utilizando o software ArcGis que permitiu gerar os mapas temáticos, onde os dados da distribuição espacial de casos humanos, do vetor e dos fragmentos de cobertura vegetal e uso do solo foram analisados, num primeiro momento, apenas visualmente. Através dos mapas temáticos foi possível verificar a gradual transformação da paisagem amazônica, em virtude da degradação da floresta, em associação com a distribuição espacial de *L. (N.) whitmani* e os casos de LTA. Dos 723 municípios que abrangem a Amazônia Legal, *L. (N.) whitmani* está presente em 212, e ocorre em todos os estados do “arco”, associado aos dois tipos principais de biomas da área (Amazônia e Cerrado). Foram totalizados 169.695 casos de LTA de 2003 a 2013 nos municípios estudados. Com uma concentração nos estados de Pará, Mato Grosso, Rondônia, Acre e Maranhão. Com as análises pelos mapas foi possível identificar áreas de concentração da doença e uma aproximação com as áreas de desmatamento e com áreas onde se encontra o vetor.

COMO A RESISTÊNCIA A PIRETRÓIDES PODE AFETAR A DISSEMINAÇÃO DA *Wolbachia* NO BRASIL?

Garcia GA, Petersen MT, Martins AJ, Maciel-de-Freitas R

gabiazambuja@hotmail.com

Laboratório de mosquitos transmissores de hematozoários

Liberações de *Aedes aegypti* com *Wolbachia* (linhagem wMel) para bloquear a transmissão da dengue e outros arbovírus foram bem-sucedidas na Austrália, Indonésia e Vietnã. Contudo, em liberação no RJ em 2014, durante 20 semanas consecutivas, a *Wolbachia* não invadiu a área de Tubiacanga, pelo fato da população nativa de *Ae. aegypti* ser altamente resistente a piretróides (PI), principal adalticida usado no país. Investigamos como a resistência a PI pode afetar a disseminação da *Wolbachia* no Brasil. A resistência a PI em wMelBr e em Tubiacanga é avaliada pela detecção de mutações kdr no canal de sódio, molécula-alvo dos PI. Ao longo das solturas, wMelBr mostrou-se susceptível a PI (apenas 3% dos mosquitos eram resistentes), sendo que o nível de resistência do *Ae. aegypti* em Tubiacanga era extremamente elevado (cerca de 100% dos indivíduos resistentes). Na 20ª semana, a *Wolbachia* era encontrada em 65% dos mosquitos coletados em campo, mas na semana 40 essa frequência era de 7%. Durante as 20 solturas, observamos que o perfil de resistência das populações liberada (wMelBr) e natural (Tubiacanga) se manteve inalterado. Na 26ª semana, os heterozigotos para resistência foram encontrados e a partir da semana 30 os homozigotos resistentes começaram a ser observados em alta frequência. O elevado uso doméstico de inseticidas mostra que, para essa estratégia ter sucesso, deve-se liberar um mosquito que seja resistente a PI e também possua *Wolbachia* (linhagem wMelkdr). Retrocruzamentos como populações altamente resistentes geraram wMelkdr, onde avaliamos o custo no fitness de ser resistente e ter *Wolbachia*. A cinética do desenvolvimento ovo-adulto, taxa de mortalidade e fecundidade de wMelkdr tem se mostrado similar ao controle. Contudo, a taxa de eclosão tem se mostrado reduzida nas populações com *Wolbachia*, sugerindo que este custo estaria associado a presença da bactéria e não a resistência a PIs. A alta resistência da população de campo (Tubiacanga), associada ao uso doméstico de PI, impediu a invasão de wMelBr. Se, ao final do ensaio de fitness, a wMelkdr mostrar alto custo em algum dos parâmetros biológicos monitorados, pode ser feita a liberação de um número maior de mosquitos por semana para balancear o custo. Nossos resultados apontaram para a importância de liberação de mosquitos com perfil de resistência a inseticidas próximo ao visto na população de campo.

AMBIENTE E HELMINTOS DE CARÁTER ZONÓTICO

Borges CXA, Moraes Neto AHA

cristina.borges@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Inovações em Terapia Bioprodutos

O objetivo geral deste estudo é investigar a possível relação entre o manuseio de resíduos sólidos e a frequência de infecção por *larva migrans*, devido a *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis* e *Toxocara cati* em famílias alvo das ações do “Plano Brasil Sem Miséria” (BSM), no Complexo de Manguinhos, RJ. São apresentados os primeiros resultados da avaliação de Manguinhos, RJ, quanto à vulnerabilidade à aquisição da toxocaríase. Foram coletados dados parasitológicos de 67 cães e gatos domiciliados, peridomiciliares e errantes; aplicados questionários sobre conhecimentos, atitudes, práticas e percepções (CAP) acerca destas zoonoses e levantamentos socioeconômicos, demográficos e ambientais em 259 famílias. A metodologia deste estudo é de natureza descritiva, exploratória e qualiquantitativa. Também foram obtidos dados sobre Manuseio dos resíduos sólidos e Posse Responsável de Animais, e estimulou-se a interação entre os moradores e as unidades de saúde locais, incluindo os agentes comunitários em saúde. Foi elaborado o primeiro Caderno Metodológico, que está em fase de editoração, destinado às Secretarias e aos profissionais de saúde, no qual está descrito de maneira didática o “passo a passo” da pesquisa. Por outro lado, as ações em educação em saúde no tema visando a prevenção e a formação em saúde, vem sendo desenvolvidas no Curso “Saúde Comunitária: uma Construção de Todos” do IOC, desde 2011. Este trabalho coaduna-se com a proposta de inserção do IOC, na medida em que ele se volta a possíveis benefícios àquelas populações alvo do BSM, desde a escolha de seu objeto de investigação, área de estudo e hipótese de trabalho.

ANÁLISE DOS NÍVEIS DE METILAÇÃO DE DNA DOS PROMOTORES DOS GENES RASSF1A E DOK1 EM TECIDOS HEPÁTICOS COM E SEM CARCINOMA HEPATOCELULAR POR PIROSEQUENCIAMENTO

Araujo OC, Rosa AS, Niel C, Fernandes A, Villela-Nogueira CA, Pannain V, Araujo NM

araujo.orc@gmail.com

Laboratório de Virologia Molecular

O carcinoma hepatocelular (CHC) é a segunda principal causa de morte relacionada ao câncer no mundo. A cirrose hepática causada pelas infecções crônicas pelos vírus da hepatite C (HCV) e vírus da hepatite B (HBV) são os principais fatores de risco para o desenvolvimento do CHC. A hipermetilação de regiões promotoras de genes é o principal mecanismo de silenciamento epigenético e tem sido associada com o desenvolvimento de CHC. Ras association domain family 1 isoform A (RASSF1A) e downstream of tyrosine kinase 1 (DOK1) são genes supressores de tumor cuja inativação tem sido relatada em pacientes com CHC. Portanto, a hipermetilação de DNA da região promotora destes genes pode ser um marcador da evolução da doença hepática e uma ferramenta para o diagnóstico precoce de CHC. O objetivo deste estudo é determinar se a ocorrência de hipermetilação dos promotores dos genes RASSF1A e DOK1 está associada com a progressão da doença hepática e o desenvolvimento de CHC em pacientes brasileiros. Foram analisadas 41 amostras de tecido hepático fixados em parafina, 20 amostras de tecido com CHC, 9 de tecido com cirrose e 12 de tecido normal. Após a extração de DNA (QIAamp DNA FFPE Tissue Kit, QIAGEN) foi realizado o tratamento do DNA celular com bissulfito de sódio (EZ DNA Methylation-Gold kit, Zymo Research). Os níveis de metilação foram determinados por pirosequenciamento (PyroMark Q96, QIAGEN) para seis e cinco ilhas CpG nos promotores dos genes RASSF1A e DOK1, respectivamente. A média dos níveis de metilação encontrados para os genes RASSF1A e DOK1, respectivamente, foram: 59,1% e 56% para tecidos com CHC, 26,1% e 22,9% para tecidos com cirrose e 16,2% e 11,9% para tecidos normais. Foi observada uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$) entre tecidos com CHC, com cirrose e normais em relação aos níveis de metilação para ambos os genes. Além disso, a frequência de hipermetilação dos promotores dos genes RASSF1A e DOK1 foram de 56% e 50% para os tecidos com cirrose e em 95% e 88% para os tecidos com CHC, respectivamente. Nossos resultados sugerem que os níveis de metilação de DNA estão associados com a progressão da doença hepática, sendo mais baixos em tecido normal, intermediários em tecido com cirrose e mais elevados em tecido com CHC. Este estudo irá ajudar a elucidar mudanças epigenéticas associadas a evolução da doença hepática que podem ser utilizadas futuramente como marcadores moleculares no diagnóstico, prognóstico e tratamento do CHC.

O TRABALHO COLABORATIVO ENTRE LICENCIANDOS E PROFESSORES DE BIOLOGIA: UM ESTUDO SOBRE AS COMUNIDADES VIRTUAIS DE APRENDIZAGEM E SUAS RELAÇÕES COM A ZONA DE DESENVOLVIMENTO PROXIMAL DE PROFESSORES (ZDPP)

Martins NHSP, Salvador DF, Luz MMP

nhdspnena@gmail.com

Laboratório de Avaliação em Ensino e Filosofia das Biociências

A internet está cada vez mais presente nos processos educacionais e o número de pessoas que buscam no ensino a distância (EaD) como forma de obter uma graduação tem crescido no Brasil. Por isso a necessidade de se compreender se fóruns numa Comunidade Virtual de Aprendizagem (CVA) podem ampliar as possibilidades de colaboração entre licenciandos de Ciências Biológicas da EAD. Para isso licenciandos de EaD e professores em exercício de ciências Biológicas participaram de três fóruns de uma CVA, construídos no modelo do conhecimento tecnológico pedagógico conteúdo (CTPC) durante duas intervenções, uma em 2014 e outra em 2015. Foram analisadas num primeiro estudo os fóruns de forma geral, descrevendo o número de participantes e participações, a média de postagens, a frequência de palavras e sua adequação ao modelo CTPC de cada participação. Num estudo posterior a análise realizada ocorreu com as interações entre os professores e licenciandos em busca da Zona de Desenvolvimento Proximal do Professor (ZDPP) contabilizando o número de interações, as contribuições realizadas nessas interações e em qual constructo CTPC essas contribuições poderiam ser classificadas. É perceptível que os professores são mais participativos independente de qual temática das bases CTPC estão envolvidas e as postagens nos fóruns são em torno do conhecimento pedagógico. As interações entre licenciandos e professores mostram que tanto professores como licenciandos podem contribuir numa CVA com informações mostrando que num ambiente em que não há uma hierarquia o fluxo de informação é bidirecional possibilitando que ambos sejam mentores e aprendizes nos processos educacionais.

ESTUDO IMUNOPATOLÓGICO DO BAÇO DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS COM *Leishmania infantum*

Andrade AV, Figueiredo FB, Menezes R, Madeira MF, Mendes-Junior A,
Cupolillo E, Porrozzi R, Morgado F

aurea.silva@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Pesquisas em Leishmanioses

O baço é um dos principais órgãos afetados na leishmaniose visceral canina (LVC) e a desorganização de sua arquitetura tem sido associada à imunossupressão e progressão da doença. Desta forma, este estudo visa avaliar alterações estruturais e celulares ocorridas na matriz extracelular (MEC) no baço de cães com LVC naturalmente infectados correlacionando-as com a carga parasitária e sintomatologia. 41 animais diagnosticados com LVC foram eutanasiados, avaliados clinicamente e agrupados em 1- assintomáticos (n=13); 2- oligossintomáticos (n=13); 3- polissintomáticos (n=15). Fragmentos do baço foram coletados para a quantificação da carga parasitária por PCRq e para análise histopatológica, imuno-histoquímica (IHQ) e imunofluorescência (IF). Na histopatologia foi avaliado o grau de organização da polpa branca classificando-a em polpa branca organizada (OR), pouco desorganizada (PD), com média desorganização (MD) e intensa desorganização (ID). Para IHQ e IF foram utilizados anticorpos para detecção de células CD3+, IFN- γ + e IL-10+, e moléculas de MEC laminina e fibronectina. Os principais sintomas foram onicogribose (80%) seguida de dermatite (70%). A maioria dos cães apresentou algum grau de desorganização da polpa branca sendo que 30 animais apresentaram MD ou ID. Esta desorganização era acompanhada de redução no número de folículos linfóides entre os grupos OR, PD, MD e ID ($p > 0,0001$). Não houve correlação entre a organização da polpa branca com grupos clínicos ou carga parasitária. Em relação ao perfil estrutural, animais desorganizados apresentaram maior deposição de laminina ($p = 0,045$), assim como os oligossintomáticos ($p = 0,016$). Em relação a fibronectina, animais polissintomáticos apresentaram maior expressão ($p = 0,037$). Foi observada correlação positiva entre a laminina e fibronectina ($p = 0,043$ e $r^2 = 0,393$), assim como correlação inversa entre a laminina e células TCD3+ ($p = 0,019$ e $r^2 = -0,637$). A desorganização da polpa branca esplênica se apresentou como uma alteração frequente nos animais com LVC e, em parte pode ter sido causada por uma maior expressão de laminina. Esta também se correlacionou com o agravamento da doença, com a expressão de fibronectina e inversamente com a quantidade de células TCD3+. Os resultados sugerem uma possível associação entre a maior expressão de laminina e fibronectina com a falha na resposta imune, o sucesso da infecção na LVC e agravamento da doença.

TAXONOMIA INTEGRADA DE ESPÉCIES DE *Triatoma* Laporte 1832 (Hemiptera; Reduviidae; Triatominae) DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

Dale C, Braga MV, Galvao C

carolinadale.coutinho@gmail.com

Laboratório de Biodiversidade Entomológica

Descoberta em 1909, a doença de Chagas (DC) é uma infecção que tem como agente etiológico o *Trypanosoma cruzi*. A transmissão ocorre principalmente por meio das fezes infectadas de insetos vetores da Subfamília Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Esta é composta por 145 espécies distribuídas em cinco tribos e 18 gêneros. Apesar do sucesso relativo dos programas de controle, é a quarta principal endemia das Américas, e no Brasil é ainda considerada uma enfermidade de caráter sócio econômico. No Rio Grande do Sul, após a certificação da interrupção da transmissão pelo *T. infestans*, outras espécies, antes consideradas primariamente, silvestres e de pouca importância epidemiológica estão aparecendo como potenciais transmissores da DC. O presente trabalho tem como objetivo analisar e comparar, através da filogenia molecular, hidrocarbonetos cuticulares, morfologia, morfometria geométrica dos adultos e morfometria ontogenética das ninfas, de três espécies afins e simpátricas do gênero *Triatoma* encontradas no Estado do Rio Grande do Sul, a fim de contribuir na identificação e caracterização desses potenciais vetores, visando a utilização destes dados para avaliação do risco da reinstalação da DC e vigilância entomológica.

ANÁLISE DO PROCESSO DA GESTÃO DO AUTOCUIDADO EM RELAÇÃO ÀS PARASITOSES INTESTINAIS: UMA PROPOSTA DE DINAMIZAÇÃO E HUMANIZAÇÃO DO SERVIÇO NO SUS

Ignacio CF, Moraes Neto AHA, Barata MML

cfignacio@yahoo.com

Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos

As parasitoses intestinais (PI) são graves problemas de saúde pública conduzindo a um ciclo doença-pobreza-doença. Apesar de existirem instrumentos de política pública que visam lidar com os determinantes sociais da saúde (DSS), há lacunas na efetividade de sua implantação tornando-se essencial examinar a interface dos instrumentos com os profissionais que o executam e com a população dele beneficiária. Esse projeto tem por objetivo analisar o processo de gestão de vulnerabilidade e cuidado relacionado às doenças negligenciadas, com foco nas PI, no Complexo de Manguinhos (CM), RJ, a fim de contribuir para a humanização dos serviços no SUS, no âmbito do plano “Brasil Sem Miséria” (BSM), através da coleta de dados qualiquantitativos levantados por questionários de conhecimento, atitudes e práticas (CAP) aplicados aos moradores (n=543) e profissionais de saúde (PS) da Estratégia de Saúde da Família (ESF) do CM (n=48), grupos focais e exames coproparasitológicos de fezes (n=928). A prevalência preliminar de parasitismo é de 4,4% (n=41) com *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis* e *Taenia* spp. sendo os mais frequentes. Em relação aos conhecimentos dos moradores: só 13,3% (n=76) e 9,28% (n=53), apresentaram conceitos corretos, respectivamente, sobre a aquisição da infecção e formas de prevenção. A ingestão de doces foi a fonte de infecção incorreta mais comum. O uso de anti-helmínticos, sem supervisão médica, foi a forma de prevenção utilizada por 13,9% (n=79) dos moradores. Os PS apresentaram informação geralmente corretas sendo que 4,4% também relataram comer doce como fonte de infecção. Foram encontradas divergências em relação às práticas dos PS. Os dados sugerem a necessidade da construção de conhecimentos para o autocuidado no CM e a homogeneização da abordagem dos OS para incluir os DSS na construção de conhecimento no âmbito do SUS. Espera-se construir indicadores de processo em saúde relacionados ao enfrentamento das PI, seus fatores de risco e as co-morbidades para a promoção de saúde no SUS e a prevenção destes agravos em famílias alvo do BSM.

EVOLUÇÃO DA RESISTÊNCIA E DIVERSIDADE CLONAL DE *Pseudomonas aeruginosa* NO RIO DE JANEIRO, 1995-2014

Santos ICO, Aguiar TF, Marques EA, Asensi MD, Carvalho-Assef APD'A

ivsoncass@gmail.com

Laboratório de pesquisa em infecção hospitalar

Pseudomonas aeruginosa se tornou um problema mundial em Infecções Associadas a Assistência a Saúde (IRAS) devido a sua rápida adaptação ao ambiente hospitalar. Estas infecções se apresentam de difícil tratamento devido ao fenótipo de multirresistência (MDR). Em nosso país, apesar do clone epidêmico SP, os surtos costumam ser policlonais. Nosso estudo visa compreender o fenômeno da resistência nos hospitais do Rio de Janeiro e a disseminação clonal ao longo de 20 anos. Para tal, um total de 83 isolados foram recuperados da Coleção de Bactérias de Origem Hospitalar do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz, provenientes de 11 hospitais. O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos e detecção colorimétrica da hidrólise do imipenem foram realizados de acordo com o CLSI 2015. A presença de carbapenemases (IMP, VIM, NDM, SPM, KPC, GES, OXA-48) foi detectada via PCR. A tipagem molecular determinada por PFGE e analisada pelo BioNumerics. Os principais sítios de isolamento foram o aparelho respiratório (29%) e a corrente sanguínea (22%). As taxas de não susceptibilidade foram de 32,6% para imipenem, 22,9% para meropenem, 14,4% para doripenem, 26,5% para gentamicina, 15,7% para amicacina e 31,3% para levofloxacina. A evolução da resistência para as quinolonas, aminoglicosídeos e carbapenemas foram de 12,5%, 12,5% e 4,2% em 1995-2000, aumentando para 30%, 40% e 20% no período de 2001-2006 e de 41,7%, 31,25% e 54,2% nos dias atuais, respectivamente. Dos isolados resistentes aos carbapenemas apenas 7,4% apresentaram a hidrólise do imipenem, sendo positivos para carbapenemase do tipo SPM. O perfil clonal obtido por PFGE mostrou grande diversidade genética. Apenas 3 perfis clonais foram encontrados em todos os períodos do estudo. Os isolados blaSPM positivos foram agrupados no clone epidêmico SP (ST277). O fenômeno da resistência é bem observada, com destaque aos carbapenemas. Esta espécie tem demonstrado outros mecanismos não enzimáticos como principais causadores da resistência que incluem mutações nos alvos dos carbapenemas, diminuição da expressão ou perda de porinas e aumento da expressão de bombas de efluxo. O fato dessa espécie ser amplamente distribuída no ambiente contribui para uma alta diversidade clonal. Embora a resistência tenha aumentado ao longo dos anos, nenhum clone predominante foi observado. Nossos dados alertam para o papel da pressão seletiva em *P. aeruginosa*.

DETECÇÃO DO VÍRUS DA HEPATITE E EM AMOSTRAS POSITIVAS PARA HIV ATRAVÉS DE TÉCNICA DE RT-PCR EM TEMPO REAL OTIMIZADA

Lemos AS, De Almeida AJ, Lopes AO, Santos RT, Gardinali NR, Pinto MA, De Paula VS

andreaslemos@gmail.com

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia

O vírus da hepatite E (HEV) é um vírus emergente, com transmissão via fecal-oral ou por ingestão de alimentos derivados de animais infectados, sendo assim difícil a determinação da fonte ou rota da infecção, principalmente devido às dificuldades no diagnóstico de hepatite E. Dentre os genótipos de HEV, o genótipo 3 – único encontrado no Brasil até o momento – tem sido associado a infecções crônicas em pacientes imunocomprometidos, como portadores de HIV. Devido aos baixos títulos de RNA do HEV que podem ser encontrados no soro, podendo se tornar indetectáveis, é difícil o diagnóstico da doença e a confirmação de resultados falso-negativos. Desta forma, apenas o uso de testes sorológicos não é suficiente para a detecção de HEV, sendo necessária a aplicação de testes moleculares mais específicos como o RT-PCR em tempo real, com maior sensibilidade e especificidade. Assim, a otimização da detecção do HEV pelo RT-PCR em tempo real pode levar a um importante método de diagnóstico em pacientes coinfectados com HIV. Para tanto, o objetivo do estudo foi otimizar e avaliar a técnica de PCR em tempo real para detecção e quantificação do RNA de HEV e sua utilização como diagnóstico molecular de HEV em portadores de HIV. Para tanto, foram realizados ensaios de RT-PCR em tempo real com a substituição da curva plasmidial por uma curva sintética, utilização de controle interno (IPC), testes de limite de detecção e de detecção de coinfeção. Após a otimização do PCR em tempo real, 279 amostras de pacientes HIV positivos foram testadas para HEV. A curva sintética apresentou parâmetros adequados para ser utilizada, com valores de slope= 3,20, R²= 0,98 e E= 99,8%, e o teste apresentou sensibilidade e especificidade <99%. Além disso, o controle interno foi detectado em todas as amostras e o limite de detecção foi estabelecido para 100 cópias/mL. Entre as 279 amostras testadas 10(3,58%) foram reagentes para HEV. A utilização da curva sintética em substituição à plasmidial e a utilização de IPC permitem a detecção de coinfeção pelo HEV em amostras HIV positivas excluindo resultados falso-negativos pelo método sensível de RT-PCR em tempo real. As amostras serão sequenciadas para confirmar a coinfeção HEV/HIV.

UTILIZAÇÃO DO RNA DE INTERFERÊNCIA COMO TERAPIA ANTIVIRAL ALTERNATIVA CONTRA A ENCEFALITE HERPÉTICA

Da Silva AS, Raposo JV, Pinto MA, Pereira TC, De Paula VS

alexasantos@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia

A encefalite herpética (HSE) é uma encefalite aguda causada, principalmente, pelo vírus Herpes Simplex do tipo I (HSV-1) com incidência anual variando de 1-4 casos/milhão de habitantes. Atualmente, o tratamento da HSE tem encontrado dificuldades, tais como: utilização de antivirais com elevada toxicidade, efeitos colaterais metabólicos e resistência ao vírus HSV-1. Uma alternativa aos antivirais é o uso de pequenas moléculas de RNA de interferência (siRNA) que agem como inibidoras da replicação viral. Nesse trabalho, utilizamos moléculas de siRNA, que tem como alvo a região UL39 do HSV-1, para avaliar o tratamento do HSE in vivo. Metodologia e Resultados: Camundongos BALB/c foram inoculados pela via intranasal com HSV-1 e tratados com siRNA. Os animais foram divididos em diferentes experimentos, nos quais avaliou-se a cinética da inibição da replicação do HSV-1, a quantidade de doses de siRNA administradas (uma ou duas doses) e a utilização do siRNA combinado com o aciclovir (antiviral utilizado para o tratamento da HSE). Além disso, os sinais clínicos da HSE, tempo de sobrevivência e inibição da replicação do HSV-1 no cérebro e gânglio trigeminal foram avaliados para medir a utilização do siRNA como terapia antiviral. No experimento da cinética, o grupo tratado demonstrou redução dos sinais clínicos da HSE e significativa inibição da replicação viral, variando de 43,6% a 99,9% no cérebro e de 53% a 98% no gânglio trigeminal. Animais tratados com uma dose ou duas doses de siRNA tiveram aumento no tempo de sobrevivência e redução dos sinais clínicos da HSE. A inibição da replicação viral foi de 67,7% nos cérebros e de 85,7% nos gânglios trigeminais de animais tratados com duas doses de siRNA. Além disso, a utilização do siRNA combinado com aciclovir levou a 100% de sobrevivência, diminuição dos sinais clínicos e inibição da replicação viral de 83,2% nos cérebros e de 74,5% nos gânglios trigeminais dos animais tratados. Discussão e Conclusões: Os resultados encontrados demonstraram que o siRNA foi capaz de reduzir os sinais clínicos da HSE, aumentar a sobrevivência e inibir a replicação por HSV-1 nos camundongos. A utilização de siRNA, principalmente combinado com aciclovir, pode se tornar uma alternativa ao tratamento da HSE, especialmente para prevenir os sinais clínicos da doença, diminuir a replicação viral e mortalidade causada pela HSE.

METAGENÔMICA NA INVESTIGAÇÃO DA ETIOLOGIA DE CASOS NÃO CONFIRMADOS DE DENGUE

Conteville LC, Marín MA, De Filippis AMB, Nogueira RMR, Vicente ACP, De Mendonça MCL

liliane.costa@ioc.fiocruz.br

Laboratório de genética molecular de microorganismos

A metagenômica recupera, de forma global, a informação genômica de uma amostra. Assim, é possível inferir a presença de organismos, a partir de sequências de genes associados a eles. No presente estudo, aplicamos a abordagem de metagenômica e análises computacionais para identificar a presença de agentes infecciosos em casos de óbito, que ocorreram durante surtos/epidemias de dengue, e que permanecem com etiologia desconhecida. Nosso desenho experimental prevê a identificação de organismos com genoma RNA ou DNA. As sequências recuperadas a partir do sequenciamento de alto desempenho na plataforma Illumina Hiseq 2500 foram analisadas com diversos programas de análises de metagenomas, como Kraken, MetaPhlAn, SURPI, GOTTCHA, entre outros. Análises in silico e in vitro caracterizaram a presença de agentes infecciosos com potencial de determinar eventos de óbito. A partir de um dos soros, foi recuperado o genoma completo de um Parvovirus B19, um vírus de DNA fita simples que afeta principalmente crianças, sendo este o primeiro genoma completo do genótipo 1A do Brasil. Em outro soro, identificamos sequências de *Neisseria meningitidis* confirmada como sorogrupo C (pela recuperação de sequências da cápsula), que pode causar meningite meningocócica, pneumonia e bacteremia. *Streptococcus pneumoniae*, que pode causar desde otite até septicemia, sua presença foi confirmada in vitro em outra amostra. Esses patógenos poderiam ter sido os determinantes dos óbitos. Em outras amostras, análises in silico recuperaram sequências de vários vírus: Herpesvirus humano 4 ou vírus Epstein-Barr, vírus da Hepatite A, Mastadenovirus, Pegivirus, Torque Teno Virus; essas infecções serão confirmadas por análises in vitro. Além disso, recuperamos sequências com identidade com retrovírus endógeno humano e bactérias da microbiota humana. A robustez desta abordagem ficou clara com a recuperação do genoma completo do vírus chikungunya da amostra que estava sendo utilizada como controle em nossas análises.

DISTRIBUIÇÃO DE POPULAÇÕES CITOTÓXICAS EM LESÕES DE LEISHMANIOSE CUTÂNEA EM PACIENTES DO RIO DE JANEIRO

Ferraz R, Cunha CF, Pimentel MIF, Lyra MR, Schubach AO, Da-Cruz AM, Bertho AL

raquelferraz@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Imunoparasitologia

Atualmente há uma controvérsia em relação ao papel dos linfócitos T CD8+ na leishmaniose tegumentar Americana (LTA), quanto a sua função citotóxica associada a proteção e regressão da lesão; e também a manutenção da infecção e dano tecidual. No entanto, outras populações celulares também exercem funções citotóxicas, como células Natural Killer (NK), Natural Killer T (NKT), linfócitos T CD4+, Linfócitos T duplo positivos (DP) e duplo negativos (DN). Sendo a lesão de LTA a apresentação clínica de maior importância torna-se fundamental que se avalie a distribuição e o papel de populações citotóxicas em lesão de pacientes de LTA, o qual foi o objetivo do presente trabalho. Todos os pacientes com suspeita de LTA foram submetidos à biópsia de lesão para confirmação de diagnóstico. Após a extração de um fragmento de tecido, o mesmo foi macerado, submetido a etapas de lavagem e filtração e a um protocolo citofluorimétrico de marcação de 8 cores: 7-AAD, anticorpos monoclonais anti-CD4, anti-CD8, anti-CD56, anti-CD3 e anti-CD107a (marcador de degranulação utilizado para avaliação de atividade citotóxica), anti-CD27 e anti-CD45RA. Foram analisadas amostras de pacientes com leishmaniose cutânea confirmada (LC) e amostras de pacientes de outras doenças não relacionadas (DNR), como esporotricose. Foi observado que em lesões de LC há uma menor frequência de células degranulando do que em lesões de DNR. Nas lesões de LC observamos que há uma maior frequência de linfócitos T DN degranulando, principalmente quando comparada aos linfócitos T CD8+ e células NK, enquanto que as células NKT foi a população que mostrou um maior comprometimento com a atividade citotóxica nas lesões de LC. Foi interessante notar uma menor frequência de linfócitos T CD8+ degranulando em comparação às células NKT, NK, DN e DP. Este perfil de distribuição de células citotóxicas observado em lesão de LC redireciona os paradigmas da citotoxicidade nesta doença, os quais também estão sendo investigados em amostras de sangue periférico a fim de melhor compreender o papel dessas células citotóxicas na imunopatogênese da LC.

ASSOCIAÇÃO DA MONTAGEM DE TRANSCRIPTOMA DE NOVO E DE GENOMA DE REFERÊNCIA COMO UMA ESTRATÉGIA PARA IDENTIFICAR TRANSCRITOS CANÔNICOS E POTENCIAIS VARIANTES DE SPLICE NA PROTEOGENÔMICA

Da Silva RT, Scherer NM, Ferreira CG, Passetti F

tawares07@gmail.com

Laboratório de Bioinformática e Biologia Computacional

A montagem de transcriptoma a partir de dados de RNA-Seq tem se mostrado como um campo desafiador para a bioinformática. Em conjunto com o crescente campo da proteogenômica, a montagem de transcriptoma apresenta um potencial para o entendimento mais abrangente do proteoma de um organismo. O presente trabalho valeu-se da combinação entre a montagem com genoma de referência para identificarmos transcritos canônicos e a montagem de novo para identificarmos potenciais novas variantes de splice. Para isso, dados públicos de mRNA-Seq (SRR1462347) de fígado de camundongo de três estágios diferentes (fetal, recém-nascido e primeiro dia de vida) foram alinhados contra o genoma (mm9) e conduzidos à montagem com genoma de referência utilizando o programa Cufflinks. Em seguida, os reads utilizados nessa etapa foram submetidos a uma filtragem para selecionarmos aqueles que não foram utilizados por essa primeira montagem. O próximo passo foi submetê-los a um segundo alinhamento contra as sequências gênicas e aqueles alinhados corretamente foram conduzidos para a montagem de novo respeitando seu agrupamento de acordo com cada gene. Após a montagem de novo, o número de transcritos montados para o estágio fetal, recém-nascido e primeiro dia de vida foram de 8.183, 8.027 e 11.239, respectivamente. A média de genes por estágio que possuem pelo menos um transcrito proveniente da nossa metodologia foi de aproximadamente 2.750. Esses resultados preliminares indicam que a associação da montagem de novo com a de genoma de referência é uma estratégia promissora para explorarmos a montagem de transcriptoma com foco na proteogenômica.

AVALIAÇÃO DE TAXAS DE INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi* E MEDIDA DE CARGA PARASITÁRIA EM TRIATOMÍNEOS CAPTURADOS EM DOIS BIOMAS BRASILEIROS ATRAVÉS DO USO DE ENSAIOS MOLECULARES BASEADOS NA PCR

Verly T, Rocha N, Almeida M, Misael D, Bedin C, Moreira O, Mallet J, Britto C

thaianeverly1@gmail.com

Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas

Apesar de, em 2006, o Brasil ter recebido a certificação internacional de eliminação do *Triatoma infestans*, existindo somente focos residuais, as alterações nos biomas aumentam o potencial de outras espécies de triatomíneos na transmissão do *Trypanosoma cruzi*. O exame microscópico é o método clássico de descrição de infecção natural por *T. cruzi* nestes vetores. Contudo, este apresenta baixa sensibilidade e reprodutibilidade, dificuldade de exame nos diferentes estágios evolutivos dos insetos, necessidade da análise em insetos frescos, além de ser um procedimento laborioso e demorado. Metodologias baseadas na PCR, qualitativa (PCRc) e em tempo real (qPCR), suprem estas limitações e permitem a detecção e quantificação acurada do parasito em variadas amostras, além de gerar resultados em poucas horas. No presente estudo, empregamos o ensaio de PCRMultiplex, desenvolvido pelo nosso grupo, para a detecção simultânea do kDNA de *T. cruzi* e subunidade 12S do gene ribossomal de triatomíneos coletados nos biomas Pampa e Caatinga. Após a análise pelo exame microscópico, a porção média-posterior do intestino de cada triatomíneo foi dissecada, seguido de lise celular. O DNA foi extraído utilizando o kit QIAGEN e mantido a - 20°C até seu uso nos ensaios de PCR. Os produtos amplificados foram visualizados em gel de agarose 2% corado com Nancy. Para a estimativa da carga parasitária por qPCR, foram realizados ensaios de quantificação absoluta utilizando o sistema TaqMan também em multiplex, com o mesmo alvo para triatomíneos e empregando o DNA nuclear satélite de *T. cruzi*. Após a padronização, foi realizado o diagnóstico molecular em 410 insetos capturados no Rio Grande do Sul (RS), no qual a taxa de infecção natural foi de 4,4% (N= 18). Já no Ceará (CE), foram diagnosticados 409 insetos, com taxa de 10,5% (N= 43). A taxa total de positividade observada pela PCRc nos estados do RS e CE foi de 61/819 (7,4%), em contraposição ao exame das fezes que obteve o resultado de 3/692 (0,4%), revelando a maior sensibilidade da técnica molecular. Através da qPCR foi possível quantificar a carga parasitária, variando entre 10^2 e 10^{11} equivalentes de parasitos/intestino, entre as amostras positivas de Santa Quitéria, Ceará. Espera-se que o presente estudo auxilie na identificação da dinâmica de transmissão do parasito, contribuindo para o controle epidemiológico da doença de Chagas.

AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE HERPESVÍRUS HUMANOS EM PACIENTES HIV REAGENTES ATRAVÉS DE DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Lopes AO, Lemos AS, De Almeida AJ, Sion FS, Morais-de-Sá CA, De Paula VS

amanda.lopes.fiocruz@gmail.com

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia

Os herpesvírus humanos (Herpes simples tipo 1 e 2, Varicella-zoster, Epstein-Barr, Citomegalovírus humano, bem como os Herpesvírus humanos 6A/B, 7 e 8) são responsáveis por causar quadros de infecção grave em portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Entretanto, no Brasil, existem poucos dados sobre a verdadeira prevalência da infecção dos herpesvírus humanos nesses pacientes. Portanto, este trabalho visou avaliar a prevalência da co-infecção herpesvírus humanos/HIV através de um diagnóstico diferencial por PCR e pelo sequenciamento do genoma viral que permite a detecção simultânea dos nove vírus da família Herpesviridae que infectam humanos. Foi realizado um estudo retrospectivo que compreendeu 280 amostras de soro de pacientes HIV reagentes, dos sexo feminino e masculino e com faixa etária variando de 17 a 69 anos. Essas amostras foram coletadas durante os anos de 2012 (112 amostras), 2013 (105 amostras) e 2014 (63 amostras) provenientes do HUGG/Rio de Janeiro. As amostras foram testadas por PCR qualitativo, através de um PCR convencional seguido por um nested PCR, que tem como alvo amplificar a região genômica conservada da DNA polimerase (dPOL/160-181 pares de bases). As amostras que amplificaram a região dPOL dos herpesvírus no PCR qualitativo foram submetidas ao sequenciamento do DNA viral para determinar a sequência dessa região e, assim, identificar o herpesvírus humanos que foi detectado. A partir disto, a prevalência encontrada da co-infecção dos herpesvírus humanos/HIV foi de 28,6% (32/112) no ano de 2012, 2,8% (3/105) no ano de 2013 e 1,6% (1/63) no ano de 2014, sendo, assim, observado uma diminuição da prevalência dessa co-infecção durante os anos avaliados. Além disso, no ano de 2012, 93,75% (30/32) estavam relacionadas a co-infecção HSV-1/HIV e 6,25% (2/32) estavam relacionadas a co-infecção HHV-6/HIV. Já no ano de 2013, dos pacientes portadores de HIV reagentes para herpesvírus, 66,6% (2/3) foram detectados com HSV-1 e 33,3% (1/3) com HHV-8. No ano de 2014 foi detectado somente uma (1/1) co-infecção HSV-1/HIV. A PCR diferencial foi importante para diagnosticar os herpesvírus HSV-1, HHV-6 e HHV-8 em portadores de HIV no Rio de Janeiro, podendo ser utilizada para monitorar o quadro clínico desses pacientes, e além disso, este trabalho pôde colaborar para determinação da prevalência da co-infecção herpesvírus humanos/HIV no Brasil.

MULTIPLEX PCR PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DOS VÍRUS DA SUBFAMÍLIA Betaherpesvirinae PARA CASOS DE HEPATITE FULMINANTE SEM ETIOLOGIA DEFINIDA

Raposo JV, Lopes AO, Pinto MA, De Paula VS

jessicavasquesr@yahoo.com.br

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia

O Citomegalovírus (CMV), Herpes Vírus Humano 6 (HHV-6), Herpes Vírus Humano 7 (HHV-7) pertencem ao gênero Herpesvírus, família Herpesviridae, subfamília Betaherpesvirinae e possuem DNA linear de fita dupla. O CMV causa uma síndrome semelhante à mononucleose infecciosa, enquanto HHV-6 e HHV-7 causa roseola infantum, convulsões febris e outras síndromes febris em crianças. Após a infecção o vírus pode ficar latente até que uma deficiência imunológica do hospedeiro favoreça sua reativação. A infecção primária pelo CMV e/ou HHV-6, pode ocasionar também hepatites geralmente leve e autolimitada em pacientes imunocompetentes, já a infecção primária em recém-nascidos, gestantes e imunossuprimidos, pode causar uma hepatite fulminante sem as lesões cutâneas características. O mau prognóstico da evolução para hepatite nos casos de herpes está associado ao diagnóstico tardio e ao atraso no tratamento específico com terapia antiviral. Portanto, a necessidade de diagnóstico precoce para dar início a terapia é evidente. A técnica de PCR em tempo real multiplex tem a vantagem de facilitar o diagnóstico da infecção e pode ser uma alternativa para detecção do CMV, HHV6 e HHV7 simultaneamente. O objetivo deste trabalho é otimizar um multiplex, baseado na técnica de PCR em tempo real, para detecção dos Betaherpesvirus, para diagnóstico de pacientes com hepatite fulminante sem etiologia definida. Para a detecção simultânea do Betaherpesvirus, curvas sintéticas foram utilizadas para a amplificação da região UL83 do CMV, U67 do HHV-6 e U95 do HHV-7. A reação foi processada no equipamento 7500 Real Time PCR Systems (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) e utilizado o método TaqMan. As sondas foram marcadas com os fluoróforos TAM para CMV, VIC para HHV-6 e NED para HHV-7. A detecção e a quantificação foi testada em monoplex, duplex e triplex. Após a avaliação amostras previamente positivas para Betaherpesvirus no PCR convencional foram testadas no PCR em tempo real multiplex. Foi possível detectar o CMV, HHV-6 e HHV-7 com as suas respectivas sondas, a reação funcionou para a detecção de monoplex, duplex e triplex. Com o PCR em tempo real foi possível confirmar a detecção de quatro amostras HHV-6 e uma de CMV que haviam sido positivas anteriormente no PCR qualitativo. O multiplex em tempo real mostrou ser eficiente para a detecção simultânea do Betaherpesvirus, contudo os parâmetros para quantificação deverão ser aprimorados a fim de esclarecer os casos de hepatite fulminante sem etiologia definida.

EVIDÊNCIAS DE REATIVAÇÃO ASSINTOMÁTICA DO HSV-2 EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO

Lima LRP, De Araújo NA, Da Silva AS, Mello VM, Mousquer GJ, Pires FR, Puga MA, Rezende GR, Castro LS, Tanaka TCO, Castro ARCM, De Paula VS

lyana.rpl@gmail.com

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia

A herpes genital é uma doença sexualmente transmissível tipicamente causada pelos vírus herpes simples tipo 2 (HSV-2). No Brasil, estima-se que existem 640.900 novos casos de herpes genital a cada ano. Estudos revelam que a herpes genital pode se manter assintomática resultando em risco de transmissão aos parceiros sexuais ao longo da vida. Desta forma, mulheres profissionais do sexo (MPS) se destacam como um grupo vulnerável à aquisição e transmissão de herpes genital já que possuem comportamento sexual de risco. Objetivo: Este trabalho tem como objetivo investigar a presença da infecção causada pelos HSV-2 e de fatores de risco associado à infecção do HSV-2. Metodologia: Mulheres profissionais do sexo do estado do Mato Grosso do Sul (MS) foram convidadas a participar do estudo e preencheram um questionário epidemiológico. Foram coletadas 396 amostras de sangue que foram testadas em ensaios imunoenzimáticos comerciais para detecção de anticorpos IgM e IgG anti-HSV2 (RIDAS-CREEN® HSV 2 IgM, AlkaTecnologia® e BIOELISA HSV 2 IgG, Biokit®). O DNA viral foi extraído do soro por kit comercial (Roche®) e submetido ao PCR em tempo real usando primers e sonda para região gD do HSV-2. Para a análise epidemiológica foi utilizado o programa SPSS e valores de $p < 0,05$. Resultado: Participaram deste estudo mulheres de 22 a 63 anos de idade e a média de idade foi de 31 anos, 46,5% (182/391) destas foram reagentes para IgG anti-HSV 2 e 9,8% (38/386) foram reagentes para IgM anti-HSV-2. Os fatores de riscos associados a prevalência da infecção causada pelo HSV-2 foram idade inferior a 30 anos ($p=0.007$) e ter idade inferior a 20 anos quando se casou ($p=0.006$). A positividade para IgM anti-HSV2 foi associada ao número superior de 15 parceiros sexuais superior na última semana ($p=0,0012$) e renda familiar inferior a 5 salários mínimos ($p=0.007$). Das 386 amostras testadas por PCR em tempo real, 5 (1,2%) foram positivas para o DNA do HSV-2 com cargas virais médias de 102 cópias/mL. Todas as amostras com DNA detectado no PCR em tempo real foram simultaneamente reagentes para IgG anti-HSV-2. Conclusão: Neste trabalho, os resultados mostram uma alta prevalência de HSV-2 em mulheres profissionais do sexo e sugerem episódios de reativação assintomática em 5 mulheres, o que reflete o risco de transmissão do vírus para os parceiros sexuais se medidas de prevenção e controle da herpes genital não forem implantadas.

GENÔMICA EVOLUTIVA E FUNCIONAL DE PSEUDOGENES EM TRIPANOSSOMATÍDEOS

Silva MA, Alvarez-Valín F, Guimarães ACR, Guerberoﬀ G, Greif G, De Miranda AB, De Souza MPC

marcioalbuquerque@silva@gmail.com

Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática

Neste projeto, propomos realizar um estudo comparativo e evolutivo dos processos e mecanismos relacionados com pseudogenes em tripanossomatídeos. Tentaremos identificar genes ou grupos de genes com maior propensão à desfuncionalização e, portanto, à pseudogenização. Mediante este tipo de análise comparativa, poderemos conhecer, ainda, quais grupos de genes não foram afetados por processos de pseudogenização e que, portanto, são indispensáveis em cada um dos grupos de tripanossomatídeos estudados. Este tipo de análise nos permitirá obter um panorama qualitativo e quantitativo dos processos de aquisição e perda de genes através do tempo nestes organismos. Outro ponto importante que abordaremos neste projeto se relaciona com a possível aquisição de novas funções por estes pseudogenes. A visão tradicional é a de que uma vez perdida a função, o destino destas sequências é a progressiva degradação. Entretanto, existem várias evidências de que pseudogenes podem adquirir novas funções, particularmente com participação na regulação da expressão gênica de outros membros da mesma família multigênica. Deste modo, usando dados de sequenciamento profundo (Illumina), determinaremos os padrões de expressão dos pseudogenes em alguns tripanossomatídeos, com o objetivo de obter pistas sobre suas possíveis novas funções. Portanto, com este projeto, pretendemos contribuir para uma melhor compreensão da dinâmica nos genomas dos tripanossomatídeos, (i) obtendo um panorama qualitativo e quantitativo dos processos de aquisição e perda de genes através do tempo nestes organismos e traçando a história particular de cada família gênica entre as linhagens estudadas, bem como (ii) analisando a dinâmica evolutiva dos pseudogenes, ou seja, os processos de pseudogenização e neofuncionalização, nestes organismos.

IDENTIFICAÇÃO DE PEQUENAS PERDAS GENÔMICAS EM ÉXONS HUMANOS DE GENOMAS DE ANCESTRALIDADE ASIÁTICA E EUROPEIA UTILIZANDO DADOS DE TRANSCRIPTOMA

Wajnberg G, Scherer NM, Ferreira CG, Passetti F

gabriel.wajnberg@hotmail.com

Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática

Mutações mudam a sequência do DNA e são associadas com doenças genéticas. Um exemplo destas alterações é a perda de nucleotídeos. O tamanho destas perdas podem chegar ao tamanho de 10 kb e quando localizadas em regiões codificadoras, estas perdas podem modificar sítios de splicing, o aminoácido codificado ou mesmo afetar a fase de leitura da proteína daquele ponto em diante. Mapeamos Expressed Sequence Tags (ESTs) da base de dados de ESTs (dbESTs) do National Center for Biotechnology Information (NCBI) utilizando o programa BLAT contra 6 genomas de ancestralidade europeia (EUR) e 6 genomas de ancestralidade asiática (EAS) do projeto 1000 genomas para identificar pequenas perdas genômicas de até 99 nucleotídeos em éxons. Um total de 291 mil perdas pequenas de até 99 nucleotídeos foram identificadas e 96 mil afetam a fase de leitura de proteínas. Identificamos ainda pequenas perdas genômicas previamente apenas identificadas pelo projeto 1000 genomas (57), apenas anotadas no dbSNP (67) ou por ambas abordagens (5). Destas 291 mil perdas, 2 mil estão presentes em mais de 50% dos genomas EAS, 1,45 mil estão presentes em mais de 50% dos genomas EUR e 17 mil presentes em mais de 50% do total de genomas. Identificamos perdas genômicas que alteram domínios proteicos gerando proteínas truncadas e que são associadas com o câncer, como uma perda genômica exclusiva de genomas EAS que altera a proteína codificada pelo gene ICAM1 (associada com o câncer de mama), outra exclusiva de genomas EUR que altera a proteína codificada pelo gene CASP8 e outra perda presente em ambas as ancestralidades que altera a proteína codificada pelo gene CDK2. Conseguimos identificar pequenas genômicas de até 99 nucleotídeos não anotadas no dbSNP e no projeto 1000 genomas exclusivas em genomas de ancestralidade asiática, europeia ou em ambas ancestralidades utilizando dados de transcriptoma.

PREDIÇÃO DE TROCA HIDROGÊNIO/DEUTÉRIO EM PROTEÍNAS UTILIZANDO DADOS ESTRUTURAIS E DINÂMICOS

Machado LA, Rodriguez ABM, Costa MGS, De Carvalho LMF, Bastos LS, Batista PR

biolucasmcahado@gmail.com

Programa de Computação Científica

Proteínas não são entidades estáticas e dependem de sua flexibilidade para executarem papéis biológicos. Neste sentido, diversas abordagens experimentais surgiram para o estudo das propriedades dinâmicas de proteínas, entre elas a medição da troca hidrogênio/deutério (HDX). Esta abordagem consiste em estudar os eventos de troca dos hidrogênios amídicos por deutérios em água deuterada por RMN ou Espectrometria de Massa. Alguns fatores influenciam a taxa de HDX, como: (i) presença de ligações hidrogênio; (ii) a exposição ao solvente; e (iii) possíveis mudanças conformacionais da proteína. Com o avanço dos estudos computacionais de proteínas, a dinâmica destas pode ser explorada através de cálculos computacionais. Dentre estas técnicas está a Análise de Modos Normais (NMA) que permite o estudo de movimentos funcionais intrínsecos de biomoléculas. Neste trabalho propusemos um modelo estatístico linear integrando dados de NMA, assim como dados estruturais como ligações hidrogênio, acessibilidade ao solvente, número de contatos e estrutura secundária para realizar predição de dados experimentais de HDX. Foram selecionadas proteínas com estrutura depositada no PDB e dados de HDX obtidos por RMN disponíveis na literatura. Partindo das estruturas depositadas no PDB, os cálculos de NMA foram realizados utilizando o software CHARMM e o campo de força homônimo. O número de contatos foi calculado utilizando um raio de 6.0 Å, a estrutura secundária e energia das ligações hidrogênio foram calculadas utilizando o algoritmo DSSP. De posse destes, foi construído um modelo linear e realizada uma validação cruzada pelo método “leave one out” para o dataset de proteínas. Os resultados das predições indicam correlações entre os dados preditos e os dados experimentais ($R \approx 0,7$), assim como a significância dos preditores escolhidos para a construção do modelo. O modelo corrobora com dados da literatura que utilizam ligações hidrogênio e contatos como preditores para troca hidrogênio/deutério e demonstra também a importância da utilização de preditores que representem o comportamento dinâmico das proteínas. No entanto, ainda são necessários estudos para a otimização do modelo com novos preditores. O presente trabalho demonstra o potencial dos dados teóricos para a predição de experimentos de HDX, tornando possível compreender melhor os determinantes da reação de troca e os dados obtidos experimentalmente.

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Blastocystis* sp. ISOLADO DE PACIENTES DE UMA UNIDADE DE SAÚDE MENTAL DE DUQUE DE CAXIAS, RJ

Barbosa CV, Andrade RJ, De Macedo HW, Igreja RP, Levy CMD'A, Santos HLC

carolvalencabarbosa@gmail.com

Laboratório de Estudos Integrados em Protozoologia

Blastocystis sp é considerado o parasito protista mais frequentemente encontrado no trato gastrointestinal humano. Elevados percentuais de prevalência são observados nos países em desenvolvimento, variando de 30 a 76%. Os indivíduos infectados podem ser assintomáticos ou apresentar sintomas inespecíficos. Todavia, muitos estudos têm sugerido uma forte relação com a síndrome do intestino irritado. Análises moleculares têm demonstrado que *Blastocystis* sp apresenta uma grande heterogeneidade genética baseado na análise do gene que codifica a subunidade menor de RNA ribossômico (SSU-rDNA). Dos 17 subtipos existentes, nove (ST1 a ST9) infectam o homem e animais e o demais subtipos foram encontrados somente em animais. Atualmente, poucos estudos sobre a diversidade genética de *Blastocystis* sp. são realizados no Brasil. Este trabalho tem como objetivo realizar a caracterização molecular de isolados de *Blastocystis* sp de indivíduos moradores de uma área urbana, localizada no Município Duque de Caxias, RJ. Foram realizadas extrações de DNA em 68 amostras de *Blastocystis* sp cultivadas em meio Pavlova, seguido da amplificação de DNA pela reação em cadeia da polimerase (PCR) para o gene SSU-rRNA, sequenciamento de DNA e análise filogenética. Das 68 amostras analisadas, 27 foram identificadas como subtipo 3 (ST3), 23 como subtipo 1 (ST1), quatro amostras como subtipo 2 (ST2) e uma amostra como subtipo 4 (ST4). Infecções mistas foram observadas em 13 (19%) amostras. Destas, nove foram identificadas com os ST1 e ST3 e quatro amostras até o momento não foram identificadas. Foi observado que o subtipo mais prevalente foi o ST3 seguido do ST1 e um elevado percentual de infecção mista foi observado neste estudo. Mapear os subtipos circulantes numa região é um pré-requisito para estudos sobre potencial patogênico e zoonótico, a fim de avaliar a importância de *Blastocystis* sp na saúde pública.

UMA ESTRATÉGIA BASEADA EM DEEP LEARNING PARA MELHORAMENTO DE FUNÇÕES DE PONTUAÇÃO EM VIRTUAL SCREENING BASEADO EM ESTRUTURA

Pereira JC, Dos Santos CN, Caffarena ER

janaina.pereira@ioc.fiocruz.br

Programa de Computação Científica

Virtual screening (VS) baseado em estrutura consiste na seleção de ligantes mais ativos usando a estratégia de docking. Um dos maiores entraves na metodologia de docking são as funções de pontuação. Essas funções não são capazes, por si só, de classificar de forma confiável ligantes docados. Nesse trabalho propomos um novo método baseado em deep learning para melhoramento de funções de pontuação em VS. Metodologia e Resultados: Nossa abordagem usa a saída do docking para treinar uma rede neural profunda (deep neural network) do tipo convolucional, nomeada como DeepVS, para identificar de forma automática características (features) que são boas preditoras da afinidade de ligação. Para verificarmos a eficácia da DeepVS, executamos experimentos de docking com o programa DOCK 6.6 sobre o subconjunto de dados do DUD com cargas parciais atômicas corrigidas, definido por 10 receptores, 431 ligantes anotados e 17.571 decoys. O desempenho da DeepVS é avaliado usando a abordagem de validação cruzada leave-one-out em conjunto com as métricas fator de enriquecimento e área sob a curva ROC (AUC). Em todos os casos a DeepVS melhorou expressivamente o resultado obtido pelo DOCK6.6 (Grid Score), tendo uma AUC média de 0,78 enquanto que a AUC média do DOCK6.6 é de 0,54. Discussão e Conclusões: Para verificar como a DeepVS se compara a outros métodos estado-da-arte em reclassificação de ligantes, comparamos nossos resultados com os resultados da rede neural DDFA-ALL. Em 60% dos casos a DeepVS supera o resultado da DDFA-ALL e em 20% dos casos a DeepVS obteve resultado igual ao obtido pela DDFA-ALL. Em média, a DeepVS (AUC 0,78) possui um desempenho melhor para todos os sistemas (proteínas) se comparado a DDFA-ALL (AUC 0,74). Os resultados da DeepVS também foram comparados com os resultados do estado-da-arte em redes neurais de rescoring de função de pontuação NNScore1 e NNScore2. Apesar dos autores do NNScore utilizarem em seus experimentos um conjunto diferente e mais simples de decoys, a DeepVS obteve resultados superiores (AUC média 0,78) à NNScore1 (AUC média 0,74) e à NNScore2 (AUC média 0,73), mesmo ranqueando um conjunto mais complexo de moléculas. Nossos experimentos preliminares demonstram que a DeepVS é um método eficaz para realização de VS, produzindo ranques de ligantes e decoys de maior qualidade do que os do programa DOCK6.6 e de outros métodos reportados na literatura.

UMA NOVA PROTEÍNA QUIMÉRICA MULTIVALENTE PARA A DETECÇÃO DE INFECÇÕES DE *T. cruzi* EM TESTES SOROLÓGICOS

Durans AM, Dos Reis FCG, De Simone SG, Junqueira ACV, Provance Junior DW

andressa.durans@gmail.com

Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde

O agente causador da doença de Chagas é o parasita *Trypanosoma cruzi* com cerca de um terço das pessoas infectadas com a doença. Até o presente momento, os protocolos de tratamento são limitados à fase aguda da doença quando parasitas podem ser detectados no sangue. No entanto, uma proporção desigual de indivíduos infectados vêm de populações negligenciadas que residem em situação de pobreza, sem acesso adequado ao sistema de saúde necessários para um diagnóstico precoce das infecções agudas. Um teste sorológico rápido poderia contornar a atual dependência de uma boa infra-estrutura desde que demonstre: 1) alta sensibilidade ao detectar o aparecimento precoce de anticorpos circulantes.; 2) extrema especificidade para eliminar a reatividade cruzada com anticorpos contra outros agentes patogênicos. O nosso objetivo é gerar uma proteína quimérica para representar múltiplos biomarcadores simultaneamente de *T. cruzi* dentro de um formato de teste rápido de diagnóstico. A proteína que foi identificada é reconhecida pelos soros de pacientes infectados com *T. cruzi*, e não para outros patógenos. As suas mínimas sequências antigênicas de aminoácidos foram combinadas com uma plataforma patenteada de proteína in situ, sintetizada como DNA e utilizada para a expressão de proteína. Uma análise do perfil de expressão sugere que esta proteína quimérica expressa em níveis elevados e é prontamente purificada até quase homogeneidade. Será apresentado o desempenho da proteína quimérica contra os painéis de soros de pacientes positivos para infecções por *T. cruzi* e *Leishmania*. Essas podem reduzir o número de proteínas recombinantes, enquanto o aumento do número de antígenos representados num ensaio. Neste estudo, temos desenvolvido uma abordagem inovadora para gerar proteínas quiméricas que podem incorporar várias sequências antigênicas de patógenos, além de ter a sua aplicação para criar uma proteína quimérica multivalente que representariam dez biomarcadores de *T. cruzi* para a detecção de infecções agudas.

USO DE SANGUE SECO EM PAPEL DE FILTRO COMO METODOLOGIA PARA DIAGNÓSTICO DA HEPATITE B

Cruz HM, Villar LM

leninhamedina@gmail.com

Laboratório de Hepatites Virais

O uso de amostras alternativas ao soro, como sangue seco em papel de filtro (SSPF), pode aumentar o acesso ao diagnóstico da infecção pelo vírus da Hepatite B (HBV) em áreas com pouco recursos ou de difícil acesso. O objetivo deste trabalho é determinar a aplicabilidade do uso de SSPF para a realização do diagnóstico e estudos de epidemiologia da hepatite B em diferentes regiões do Brasil. Amostras pareadas de soro e SSPF foram obtidas de 2118 indivíduos para avaliação da eficiência de testes imunoenzimáticos (ELISA) comerciais para detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HBs (Diasorin, Itália). Esses indivíduos foram divididos em três grupos: I: 320 indivíduos provenientes de Ambulatórios de Hepatites Virais; II: 1306 voluntários provenientes dos Estados do Rio de Janeiro, Tocantins e Mato Grosso do Sul; e III: 485 indivíduos considerados como grupos de alta vulnerabilidade para aquisição do HBV (profissionais de beleza e usuários de crack). O soro foi testado conforme informações do fabricante. Para SSPF, os volumes de amostra foram modificados e o cálculo do ponto de corte foi feito utilizando a curva ROC para HBsAg e pelo protocolo do fabricante para anti-HBc e anti-HBs. A população tinha média $\pm$ desvio padrão da idade igual a 43 ± 18 anos e a maioria era do sexo feminino. Para HBsAg, observamos sensibilidades de 88,5%; 37,5% e 80,0% e especificidades de 90,5%; 92,71% e 96,2% nos grupos I, II e III, respectivamente. A sensibilidade do teste anti-HBc foi 77,5%; 45,6% e 63,6% e a especificidade foi de 95,4%; 99,8% e 99,8% nos grupos I, II e III respectivamente. A sensibilidade do teste anti-HBs foi 71,2%; 79,4% e 92,2% e especificidade foi 62,4%; 65,0% e 54,4% nos grupos I, II e III respectivamente. No presente estudo, os valores de sensibilidade e especificidade para detecção de HBsAg foram superiores aqueles relatados por Forbi et al. (2010). As especificidades de anti-HBc e anti-HBs foram superiores e inferiores, respectivamente, em comparação a estudo anterior (Villar et al. 2011). Também observamos diferenças de sensibilidade dos testes de acordo com o grupo avaliado no presente estudo, o que pode ter ocorrido devido a diferenças de prevalência dos marcadores nestes grupos. É possível detectar marcadores de hepatite B em SSPF o que pode facilitar o acesso ao diagnóstico em determinadas populações.

AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DOS GENES CORE E NS3 DO HCV E SUA RELAÇÃO COM O DESENVOLVIMENTO DA RESISTÊNCIA À INSULINA

Scalioni LP

le_scali@hotmail.com

Laboratório de Hepatites Virais

O papel do vírus da hepatite C (HCV) no desenvolvimento da resistência à insulina (RI) não é completamente compreendido. O objetivo deste estudo foi determinar a variabilidade genética das regiões core e NS3 do genoma do HCV em pacientes com e sem RI, a fim de identificar possíveis mutações associadas. Um total de 48 pacientes virgens de tratamento infectados com HCV foram submetidos a coleta de sangue para determinação dos marcadores: ALT, AST, γ -GGT, fosfatase alcalina, insulina, glicose, TRIG, HDL, LDL e HG. A RI foi calculada usando o índice homeostasis model assessment (HOMA), onde RI foi definida como $HOMA > 2$. A carga viral e genótipo foram determinados pelo teste comercial Real Time HCV (Abbott, US). O HCV RNA foi extraído com o kit comercial (Qiagen, DD) e a transcrição reversa realizada com Superscript III (Invitrogen, US) e random primers. O Nested-PCR foi realizado para amplificação dos alvos [NS3 (3289-4054 nt) e core (448-732 nt)], seguido de purificação, sequenciamento nucleotídico e análise no software MEGA v.6. O teste X2 foi usado para comparar a prevalência das mutações. A média de idade dos 48 pacientes foi de 54,7 anos ($\pm 11,2$) e predomínio do sexo feminino (60,4%). A carga viral média foi de $1,9 \times 10^6$ ($\pm 3,5 \times 10^6$) IU/mL, 62,5% e 29,2% apresentaram genótipo 1b e RI respectivamente. Na análise bivariada, o colesterol total ($p=0,03$) e insulina ($p<0,001$) foram estatisticamente relacionadas à RI. Quanto à região do core, 17 indivíduos (35%) apresentaram substituições no aa 70 (Arg) (R70E/H/P) e 23 (47,9%) no aa 91 (Met) (M91L/C). Na região de NS3, as seguintes substituições foram encontradas: A1033S/T, C1042T, I1061V, T1068S, T1087S, R1088K, I1090L, S1092G, I1098T/V/I/s, T1100M, Q1115P/A, S1117A, I1158V/L, T1173S/A/M, L1179I, I1196V, N1200S/T/A e L1201M. As mutações encontradas no core e NS3 não foram relacionadas com a presença/ausência de RI. No core, as mutações no aa 91 foram mais comuns do que no 70. Além disso, também foram observadas várias substituições de aa na região NS3, mas nenhum delas relacionadas com RI. As mutações nos aa 70 e 91 do core já foram associadas ao HCC em pacientes com HCV (Araújo et al 2014) e ao aumento da produção de IL-6 e resistência ao IFN (Uraki et al 2015), porém nenhum trabalho demonstrou relação direta entre mutações no core e NS3 à RI. A variabilidade genética nas regiões do core e NS3 parece não desempenhar um papel no desenvolvimento da RI.

EXPLORANDO GENOMAS DE MICOBACTÉRIAS ATÍPICAS

Morgado SM, Vicente ACP, Marín MFA

sergio.morgado@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Genética Molecular de Microrganismos

O gênero *Mycobacterium* abrange espécies típicas e atípicas. As micobactérias ambientais estão no grupo das atípicas, e tem como uma das características o crescimento rápido. Estas espécies podem ter potencial de causar infecções, mas principalmente, podem ser utilizadas em biotecnologia. Nesse contexto, micobactérias isoladas do solo da Mata Atlântica estão sendo estudadas sob a ótica da genômica, objetivando revelar: genoma “core”, acessório e mobiloma (plasmídeos, bacteriófagos, ilhas genômicas). Três genomas de micobactérias da CBAS (234, 312 e 326) foram sequenciados na plataforma Illumina Hiseq 2500, gerando reads 100bp paired-end, que foram pré-processados aplicando Quake e NGSQCToolkit. As montagens de novo foram realizadas utilizando A5 pipeline e SPAdes, que geraram montagens parciais, e foram integradas utilizando CISA. Um último passo foi o melhoramento dos genomas montados utilizando Pilon. O PHAST foi utilizado para detectar profagos putativos. Apesar do A5 pipeline ser aplicável à montagem de novo, no nosso caso, com genomas de micobactérias, foram gerados erros de montagem (excessivo número de contigs, tamanho de genoma não compatível com o gênero, entre outros). Quando o SPAdes foi utilizado, obtivemos genomas compatíveis com a diversidade das espécies do gênero. O PHAST identificou dois genomas de profagos putativos em um dos genomas. Em um deles foi identificado genes de estruturas que caracterizam um bacteriófago (profago intacto), enquanto que no outro a identificação foi parcial. O genoma do profago intacto teria 55kb e não apresenta identidade com nenhum outro genoma de bacteriófago. Em um dos genomas, num segmento de 12.2 kb, identificamos um “array” de tRNAs contendo 32 tRNAs, que correspondiam a quase todos os tipos. Neste mesmo segmento do “array” está presente uma sequência de fago. Interessantemente “arrays” de tRNA são encontrados em alguns genomas de micobacteriófagos. As micobactérias são caracterizadas por apresentarem uma grande diversidade de micobacteriófagos, muito dinâmicos e diversos, possuindo variados tamanhos e conteúdo genético. Iremos realizar experimentos de indução dos profagos identificados, já que os micobacteriófagos são capazes de carrear genes entre espécies, sendo uma importante via de disseminação de genes, como pode ter acontecido com o “array” de tRNA, podendo representar um fóssil de genoma de micobacteriófago nas micobactérias deste estudo.

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA RECUPERAÇÃO DE NOROVIRUS GI EM AMOSTRAS DE PRESUNTO

Luz IS, Miagostovich MP

belleluz@gmail.com

Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental

Norovirus (NoV) são a principal causa de surtos e casos esporádicos de gastroenterite não bacteriana no mundo, em que a origem alimentar é uma importante fonte. Alimentos prontos para o consumo, como o presunto, são considerados como produtos possíveis de contaminação viral devido à manipulação de alimentos. NoV, que pertencem à família Caliciviridae, podem ser classificados em 6 genogrupos, dos quais os genogrupos I, II e IV compreendem linhagens que infectam humanos. Embora NoV sejam responsáveis por episódios de doença de origem alimentar, não há um método padronizado para recuperação destes agentes em alimentos e numerosos métodos vem sendo desenvolvidos. Além disso, a RT-PCR em tempo real (RT-qPCR) é considerada como o método molecular de escolha para a detecção de NoV em amostras de alimentos. O objetivo deste trabalho foi avaliar metodologias de recuperação de NoV GI em amostras de presunto baseadas na concentração por PEG e floculação orgânica, e detecção destes vírus por RT-qPCR utilizando norovirus murino 1 (MNV-1) como controle de processo. As amostras de presunto (25g) foram lavadas com tampão de eluição (Tris-Glicina pH 9.5) incluindo 3% de extrato de carne para concentração viral com solução de polietilenoglicol (PEG 6000), e solução de leite desnatado pré-floculado (1%) em ensaios realizados separadamente. Para extração do genoma viral, foi utilizado o kit QIAmp kit mini viral. Após transcrição reversa, o DNA complementar foi aplicado na detecção de NoV e MNV-1 por qRT-PCR de acordo com Kageyama et al. (2003) e Baert et al. (2008), respectivamente. Análises direcionadas para detecção de NoV GI e MNV-1 em amostras de presunto, utilizando PEG6000, mostraram eficiência de recuperação de NoV GI variando de 0,03% a 0,79%, e de 0,01% a 0,05% para MNV-1. Segundo Scherer et al. (2010), taxas de recuperação inferiores a 5% são provavelmente devido a componentes inibidores, presentes na própria matriz alimentar, que parecem desenvolver um papel importante na eficácia de detecção de vírus. Os resultados obtidos em relação ao método de floculação orgânica para eficiência de recuperação de NoV GI variaram de 1,88% a 87,94% e de 0,19% a 11,14% para MNV-1, variabilidade decorrente do não acréscimo de detergente CTAB, que facilitaria a remoção de inibidores. Embora a identificação de vírus em alimentos seja um desafio, outros métodos estão sendo testados para avaliação de melhor eficiência na recuperação deste patógeno em amostras de presunto.

OTIMIZAÇÃO DE MÉTODOS IMUNOENZIMÁTICOS PARA DETECÇÃO DE MARCADORES DA INFECÇÃO PELOS VÍRUS DAS HEPATITES B E C EM AMOSTRAS DE SALIVA E SANGUE SECO EM PAPEL DE FILTRO EM INDIVÍDUOS COINFECTADOS HIV/HBV E HIV/HCV

Flores GL, Villar LM

geanflores@gmail.com

Laboratório de hepatites virais

O uso de amostras alternativas ao soro pode facilitar o acesso ao diagnóstico das hepatites virais principalmente em determinadas populações. O objetivo deste estudo é otimizar métodos imunoenzimáticos para detecção de marcadores das hepatites B e C em amostras de saliva e sangue seco em papel de filtro (SSPF) em indivíduos monoinfectados e coinfectados com HIV. Um total de 1502 indivíduos (monoinfectados HBV e HCV, coinfectados com HIV e saudáveis) foram divididos em quatro grupos para avaliação do desempenho dos testes de HBsAg, anti-HBc, anti-HBs em SSPF, anti-HBc em saliva, anti-HCV em saliva e SSPF. Testes imunoenzimáticos (EIA) comerciais foram empregados, onde o protocolo do fabricante foi seguido para o soro e o volume de amostra e ponto de corte foram modificados para os testes com SSPF e saliva. O teste de detecção de HBsAg em SSPF apresentou sensibilidades de 91,7% em HBV+ e 84% em HBV/HIV+ e especificidade acima de 95%. O teste anti-HBc em SSPF obteve sensibilidades de 31,4%; 80,5% e 58% em HIV+, HBV+, HIV+/HBV+ e especificidades de 88,2%; 100%; 50% em HIV+, saudáveis e HIV+/HBV+, respectivamente. O teste anti-HBs em SSPF apresentou sensibilidades de 78,6% e 50% em HIV+ e HIV+/HBV+ e especificidades de 51,2%; 37,5%; 95%; 47,6% em HBV+, HIV+, saudáveis e HIV+/HBV+. A especificidade do teste anti-HCV em SSPF foi acima de 98,6% em SSPF e acima de 82,9% em saliva. A sensibilidade do teste anti-HCV em SSPF foi 93,5% em HCV+ e 83,3% em HCV+/HIV+, enquanto que os valores em saliva foram 48,6% em HCV+ e 46,3% em HCV+/HIV+. O teste anti-HBc em saliva demonstrou especificidades de 82,9% a 99% de acordo com o perfil estudado e sensibilidades de 89,5%; 85,7%; 12,8% em HBV+, HBV+/HIV+ e HIV+. Os testes de detecção de HBsAg e anti-HCV em SSPF apresentaram bom desempenho independente da presença de HIV. Do mesmo modo Villar et al. (2011) e Marques et al. (2012) também observaram bom desempenho em indivíduos monoinfectados. Os testes de detecção de anti-HBc e anti-HBs em SSPF apresentaram baixo desempenho em indivíduos HIV+. Os testes de detecção de anti-HCV e anti-HBc em saliva apresentaram baixos valores de sensibilidade ao contrário do que foi observado por Cruz et al. (2011) para detecção de anti-HCV. Amostras de SSPF podem ser empregadas para detecção de HBsAg e anti-HCV em indivíduos com ou sem infecção pelo HIV o que pode facilitar o acesso ao diagnóstico das hepatites virais.

ESTUDO DA RESPOSTA IMUNE DE *Rhodnius prolixus* INDUZIDA POR ESPÉCIES REACTIVAS DE NITROGÊNIO NA INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi*

Batista KKS, Caruso K, Waniek P, De Castro DP

kate.gomes@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos

O estudo da resposta imune do triatomíneo, *Rhodnius prolixus*, nos permite entender a fisiologia, a sua microbiota e o processo de desenvolvimento do ciclo do *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. A produção de Espécies Reativas de Nitrogenio (RNS) pelo triatomíneo parece ser fundamental para o sucesso de infecção pelo parasita no vetor e necessita de mais investigações sobre a sua ação tanto sobre o parasita, quanto sobre a flora microbiana e em relação às respostas imunes do inseto. Neste caso, o objetivo foi estudar a importância e a função do RNS na interação entre o parasita, o vetor e microbiota. Para isso, ninfas de quinto instar de *Rhodnius prolixus* foram tratadas com indutor de óxido nítrico e foram analisadas em diferentes dias após a alimentação e tecidos diferentes, foram avaliadas: a quantidade de nitrito produzidos, a microbiota, usando o método UFC, contagem da parasitemia, a atividade da enzima fenoloxidase, atividade antimicrobiana e expressão da enzima Óxido Nítrico Sintase (NOS). Observou-se que no grupo controle, a quantidade de nitrito correspondente a RNS, é maior no intestino anterior e nos primeiros dias de alimentação. No intestino posterior, a quantidade de RNS aparece maior no décimo terceiro dia após a alimentação. A expressão da NOS é mais elevada no corpo gorduroso do que em outros tecidos, e diminui com cada dia, aumentando em outros tecidos. Insetos infectados com o *Trypanosoma cruzi* têm menor produção de nitrito, menor atividade da enzima fenoloxidase e microbiota mais baixos. Ao induzir a produção de RNS utilizando 5 mg/ml de L-arginina, diminui-se a parasitemia e aumenta microbiota de insetos infectados com *T. cruzi*, aumenta a atividade de fenoloxidase e atividade antibacteriana. Estes resultados indicam a importância de RNS para a resposta imunitária do inseto, a sua microbiota e o desenvolvimento de *T. cruzi* no hospedeiro invertebrado.

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DE AÇÕES EDUCATIVAS NA PREVALÊNCIA DA ESQUISTOSSOMOSE EM ESCOLARES DO MUNICÍPIO DE MALACACHETA, MINAS GERAIS, BRASIL

Cabello K, Massara CL, Beck L, Murta F, Pieri O, Schall V, Favre T

karina.cabello@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Educação em Ambiente e Saúde

O tratamento dos infectados e o saneamento combinados com ações de educação em saúde constituem medidas eficazes para garantir a sustentabilidade das ações de controle da esquistossomose. Este estudo avalia se ações educativas (AE), conjugadas ao diagnóstico e tratamento, em escolares de Malacacheta (MG), servem para reduzir a infecção e ampliar o conhecimento sobre a doença. Um questionário foi aplicado para avaliar o conhecimento sobre esquistossomose antes da realização dos inquéritos parasitológicos (IP) e das AE (abril/2013). Em maio/2013 foi feito o primeiro IP, seguido de tratamento seletivo (julho/13) e IP para avaliação de cura após 45 dias. Oito escolas foram pareadas, pela positividade para *S. mansoni*, área (rural ou urbana) e número matriculados; e aleatoriamente designadas para compor os grupos controle (sem AE) e experimental (com AE). Dois IP foram realizados um ano (2014) e dois anos (2015) após o 1º tratamento (julho/2013). Três ciclos de tratamento seletivo foram realizados ao longo do estudo, em seguida a cada IP. Para avaliar mudanças no nível de conhecimento dos alunos sobre a endemia o mesmo questionário foi reaplicado em quatro momentos (1 e 6 meses, 1 e 2 anos). Serão apresentados aqui apenas os dados referentes a uma coorte de 260 escolares que participaram dos quatro IP, em quatro das oito escolas do estudo. Deles, 128 escolares integram o grupo controle (GC) e 132, o grupo experimental (GE). No 1º IP, a positividade para *S. mansoni* foi 28,1% (GC) e 28% (GE) e não diferiu significativamente entre os grupos. A adesão ao tratamento foi 91,7 % (GC) e 97,3 % (GE). A adesão ao exame para avaliação de cura foi significativamente maior no GE (92%) do que no GC (58,3%). A negatificação pós-tratamento foi 100% nos dois grupos. A positividade caiu significativamente nos dois inquéritos subsequentes tanto no GE (6,1% e 1,5%, em 2014 e 2015, respectivamente) quanto no GC (5,1% e 1,6% em 2014 e 2015, respectivamente) e não diferiram entre si. Possivelmente, os três ciclos de tratamento foram responsáveis pela queda significativa da positividade nos dois grupos do estudo. Ainda não se pode ter uma avaliação fidedigna do papel das ações educativas tanto no impacto dos indicadores de infecção quanto na aquisição de conhecimento dos alunos já que na presente análise não foram incluídas todas as escolas participantes do estudo tampouco as informações levantadas nos cinco questionários aplicados com escolares.

A ARTE POR TRÁS DO VERMES

Di Azevedo MIN, Iñiguez AM

isabel.azevedo87@gmail.com

Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos

Para o estudo dos helmintos parasitos, desde muito tempo é essencial a caracterização morfológica dos mesmos. Mesmo após a introdução das ferramentas moleculares, a taxonomia clássica baseada na morfologia continua sendo fundamental, principalmente na descrição de novas espécies. A representação dos nematoides parasitos geralmente é feita através de desenhos obtidos com auxílio de uma camera Lucida acoplada a um microscópio. O procedimento, no entanto, é trabalhoso e demanda bastante tempo ao microscópio. A qualidade do desenho depende muito das habilidades artísticas do desenhista, que precisa ter um traço firme ao passar a caneta nanquim. Baseado nisto, estamos empregando uma metodologia para obtenção de desenhos científicos em alta resolução, com traços firmes e riqueza de detalhes. Após clarificar os helmintos com lactofenol de Amann para evidenciação das estruturas internas, desenhos são feitos dos mesmos com auxílio do programa Photoshop, a partir de uma sequência de fotos tiradas em diferentes focos do microscópio. O resultado são desenhos de excelente qualidade, sem perder a fidedignidade. É possível, ainda, utilizar cores semelhantes aquelas do verme original para enriquecer o desenho e torná-lo mais realista. No caso dos nematóides, a metodologia vem para contribuir com a taxonomia integrativa, já que as porções anteriores e posteriores são utilizadas para caracterização morfológica e a porção central é reservada para a análise genética. Até o momento, esta metodologia já foi aplicada em nematoides parasitos de mamíferos marinhos e peixes, e o resultado vêm contribuindo significativamente para minha tese de doutorado, assim como para publicações em revistas científicas, que requerem desenhos de alta qualidade.

DINÂMICA DA MICROBIOTA INTESTINAL DE *Ae. aegypti* EM CONDIÇÕES NATURAIS E NO LABORATÓRIO

David MR, Vicente ACP, Maciel-de-Freitas R

maridavid@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Transmissores de Hematozoários

A microbiota intestinal influencia aspectos da biologia do *Aedes aegypti*, incluindo a susceptibilidade a arbovírus, como o dengue. Assim, é fundamental conhecê-la e investigar possíveis fatores que influenciam sua composição em populações naturais de mosquitos. Bactérias isoladas do intestino médio de *Ae. aegypti* foram identificadas com base na sequência do 16S rDNA (~400 pb). A região V3-V5 do 16S rDNA (~270pb) foi submetida ao pirosequenciamento. A dinâmica da microbiota foi investigada em uma população selvagem do Rio de Janeiro (Valqueire) comparando-se diferentes grupos etários e através de um experimento de marcação-soltura-recaptura (MSR). Isolamos sete gêneros bacterianos, além da família Enterobacteriaceae. No laboratório, fêmeas de 35 dias de idade, alimentadas apenas com açúcar, apresentaram um aumento da abundância de bactérias dos gêneros *Asaia* e *Elizabethkingia* e da família Enterobacteriaceae em relação a fêmeas de três dias, alimentadas só com açúcar ou açúcar e sangue. *Asaia* e *Elizabethkingia* não foram detectadas nos indivíduos recém soltos, sendo encontradas em baixos níveis nos indivíduos recapturados mais tardiamente após a soltura. *Asaia* foi isolada em indivíduos recapturados durante o MSR enquanto *Elizabethkingia* foi isolada em indivíduos do laboratório. A composição da microbiota foi constante em fêmeas coletadas no campo. A composição da microbiota de *Ae. aegypti* apresentou poucas mudanças ao longo da vida das fêmeas adultas 3-11 dias de idade, apesar da criação no laboratório ou em um criadouro natural, da dieta e após a sua soltura no ambiente. Diferenças foram observadas nos indivíduos mais velhos do laboratório, com o aumento na abundância de bactérias já detectadas nos indivíduos mais jovens do laboratório (*Elizabethkingia*) ou oriundos do MSR (*Asaia*). É possível que tais bactérias possuam vantagens competitivas no lúmen intestinal, o que resultaria no seu incremento ao longo tempo sobre as demais. Ambos os gêneros não foram encontrados nos indivíduos oriundos do criadouro natural. A composição da microbiota parece ser determinada logo após a emergência das fêmeas de *Ae. aegypti*. Uma vez que bactérias da microbiota podem influenciar a susceptibilidade dos mosquitos a arbovírus, alguns indivíduos já emergiriam mais aptos à transmissão de arboviroses do que outros. A interação da microbiota com o dengue, meta deste projeto, auxiliará a testar essa hipótese.

APONTAMENTOS E INTEGRAÇÃO DE CENÁRIOS A PARTIR DO PROGRAMA SAÚDE NA ESCOLA (PSE): CONTRIBUIÇÕES PARA ESTRATÉGIAS ENVOLVENDO AS DOENÇAS NEGLIGENCIADAS E O PLANO BRASIL SEM MISÉRIA

Assis SS, Araújo-Jorge TC

sheila.assisbiouff@gmail.com

Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos

O Programa Saúde na Escola (PSE) possui o potencial de colaborar para a mitigação das doenças negligenciadas e foi integrado ao Plano Brasil sem Miséria (BSM), no eixo de acesso aos serviços públicos. O objetivo geral da tese em desenvolvimento é promover a articulação entre os atores do Programa Saúde na Escola (PSE) por meio da elaboração de uma estratégia educativa sobre as doenças negligenciadas em áreas acolhidas pelas Expedições Científicas do Instituto Oswaldo Cruz (IOC) e pelo BSM. Para a consecução dos objetivos se processará três fases: (1) análise de documentos, (2) entrevista semiestruturada e (3) realização de oficinas dialógicas. Foram recuperados 48 documentos relacionados ao PSE; 31 ao BSM; 167 sobre as doenças negligenciadas (DN); e as propostas curriculares de 21 estados brasileiros. A análise tem demonstrado que enquanto determinados agravos, são amplamente difundidos são escassas informações disponíveis sobre outros. Já em relação às oficinas dialógicas, foram realizadas duas durante a terceira edição das “Expedições Fiocruz pelo Brasil Sem Miséria” realizado em Rio Branco (AC), em 2014. Como produtos foram gerados dois fascículos do “Com Ciência” narrando a experiência e quatro materiais audiovisuais (um telejornal simulado e três animações do tipo stop motion). Estes últimos foram produzidos pelos participantes das oficinas. Os produtos (fascículos e material audiovisual) encontram-se em fase de edição. Em relação às entrevistas com gestores, além do gestor municipal do PSE de Rio Branco foram incluídos dois outros municípios do Estado do Rio de Janeiro indicados como prioritários pelo PSE para a abordagem das doenças negligenciadas. As interlocuções tem revelado a importância atribuída às DN no âmbito das ações, as fragilidades e os pontos bem sucedidos da estratégia a fim de colaborar com a minimização do cenário que envolve as DN. Espera-se que o projeto contribua para a mitigação da pobreza por meio da prospecção de conhecimentos sobre o PSE e das ações sobre as doenças negligenciadas no contexto do BSM.

DETERMINANTES AMBIENTAIS E PRÁTICAS EDUCATIVAS APLICADAS À VIGILÂNCIA DE VETORES EM ÁREAS DE TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA, NAS COMUNIDADES DO CAMPUS FIOCRUZ MATA ATLÂNTICA, JACAREPAGUÁ, RIO DE JANEIRO, RJ

**Costa WA, Afonso MMS, Santana AL, Silva JS, Ostritz A, De Oliveira JS,
Dos Santos ER, Araújo Jorge TC, Rangel EF**

wagnerac_1@hotmail.com

Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Diptera e Hemiptera

As leishmanioses prevalecem em condições de pobreza e contribuem para manutenção do quadro de desigualdades. Ocorrem em áreas rurais e periurbanas associadas a comunidades vulneráveis com ausência ou ineficiência de serviços básicos. No Brasil, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é endêmica e em franca expansão geográfica, ocorrendo em todos os estados, influenciada por diversos condicionantes ambientais, históricos e sociopolíticos. No Rio de Janeiro, o registro de casos LTA aumentou, a partir da década de 80, principalmente em Jacarepaguá, onde se localiza o Campus Fiocruz Mata Atlântica (CFMA), cujas comunidades foram incorporadas ao Programa de Aceleração do Crescimento (PAC) visando qualificar as ocupações. Tem-se a hipótese de que as obras do PAC poderão determinar impactos ambientais como fatores exacerbadores da transmissão da LTA. Caracterizar o perfil ambiental das comunidades, identificando condições propícias ao contato homem-vetor, bem como adotar de uma proposta de ações integradas de vigilância, pelo desenvolvimento de práticas educativas dirigidas às comunidades e aos agentes de Saúde do Centro Municipal de Saúde Mata Atlântica. Foram avaliados em 45 residências características relacionadas à presença de animais domésticos, abrigos de animais domésticos, árvores frutíferas no peridomicílio, presença de lixo e matéria orgânica nos quintais. As atividades de Educação em Saúde ocorreram sob o formato de oficinas. Das residências estudadas, 78% possuíam animais domésticos nos quintais, 91,2 % apresentaram árvores frutíferas, 87% dos quintais apresentaram lixo espalhado nos quintais. Nas oficinas foram trabalhados conceitos sobre transmissão de LTA, com apresentações em PowerPoint. Após, trabalhou-se com dinâmica a construção de telas de proteção para portas e janelas, como prática preventiva para reduzir o contato homem-vetor no domicílio. Pelo uso de tecnologia social, moradores, após terem se apropriado de informações, foram estimulados a trabalhar na produção de proteção coletiva. Pretende-se minimizar os riscos de exposição dos moradores, sensibilizando-os, informando-os e assegurando a participação coletiva na prevenção da LTA. Espera-se contribuir com o planejamento estratégico dirigido às ações de controle integrado da LTA, colaborando para o enfrentamento das iniquidades em saúde.

AVALIAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA HEPATITE B

Portilho MM, Villar LM

moyramp@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Hepatites Virais

O diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é importante para definir o diagnóstico, monitorar o curso da infecção e a resposta ao tratamento antiviral. O objetivo deste estudo é desenvolver e avaliar métodos de detecção e/ou quantificação do HBV DNA. Dois grupos de indivíduos foram incluídos: I) 139 pacientes subdivididos em 3 painéis: painel a) 50 amostras testadas por 3 métodos de PCR qualitativo in-house (PCR para o gene do Core, PCR para a região pré-S/S e semi-nested PCR para gene S) e Cobas Amplicor HBV Monitor Assay (Roche Diagnostics, EUA); painel b) 87 amostras testadas pela semi-nested PCR e Cobas TaqMan HBV test (Roche Diagnostics, EUA); painel c) 11 amostras seriadas obtidas de 2 pacientes testadas com Cobas Amplicor HBV e semi-nested PCR; grupo II) 107 indivíduos (59 HBsAg reagentes e 48 sem nenhum marcador para hepatite B) que forneceram amostras para desenvolvimento de PCR em tempo real com iniciadores para o gene S do HBV. No grupo I, a semi-nested PCR apresentou os melhores resultados entre os métodos qualitativos em comparação aos testes comerciais (90% de concordância, $p=0,092$ e Kappa=0,49 em comparação ao Cobas Amplicor HBV Monitor no painel a; e 67,8% de concordância, $p=0,024$ e Kappa=0,18 em comparação Cobas TaqMan HBV no painel b). A semi-nested PCR apresentou boa eficiência no painel c, visto que foi possível detectar o HBV DNA até a 17ª semana após a primeira coleta. No grupo II, a PCR em tempo real desenvolvida obteve limite de detecção de 180 cópias de HBV DNA/mL e 78,84% de concordância com teste comercial, com carga viral média de $4,644 \pm 1,465$ log cópias/mL ($r=0,08856$; $p<0,001$). No grupo I, observamos bom desempenho da semi-nested PCR para detecção qualitativa do HBV demonstrando que o uso de mais uma etapa da PCR aumenta a sensibilidade da técnica. A PCR em tempo real desenvolvida neste estudo apresentou baixo limite de detecção e boa correlação com o método comercial para quantificação do HBV ao contrário de Paraskevis et al. (2010) que obteve 59% de concordância entre um método in-house de PCR em tempo real e o teste Cobas Amplicor Monitor. O semi-nested PCR qualitativo e o PCR em tempo real desenvolvido neste estudo apresentaram boa eficiência e poderiam ser utilizados para detecção do HBV DNA em laboratórios com poucos recursos.

ANÁLISE ESTRUTURAL, EVOLUTIVA E METABÓLICA DE ENZIMAS ANÁLOGAS NO GENOMA HUMANO

Piergiorgio R, Guimarães ACR, Catanho M

rafaelpiergiorgio@gmail.com

Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática

O projeto genoma humano teve início na década de 90 e foi finalizado treze anos depois. Desde então, muito se revelou a cerca da estrutura do genoma, porém, não existem dados referentes a enzimas análogas funcionais intragenômicas no genoma humano ou sobre a expressão gênica dessas atividades. Dessa forma, este projeto pretende investigar a importância biológica e evolutiva de análogos funcionais intragenômicos em vias metabólicas na espécie humana. Para tanto, foram utilizadas sequências enzimáticas disponíveis no banco de dados KEGG para a predição computacional das possíveis formas análogas, através de um pipeline desenvolvido em nosso grupo (AnEnPi). Nesse pipeline, sequências representantes de uma mesma atividade enzimática, ou seja, classificadas com o mesmo EC, que obtenham uma pontuação maior ou igual a 120, quando comparadas, são reunidas em um mesmo grupo e são consideradas presumidamente homólogas, segundo nossa definição de trabalho; sequências pertencentes a grupos distintos de uma mesma atividade enzimática são consideradas análogas putativas. Foram obtidas 258 sequências proteicas humanas, divididas em 34 ECs. Posteriormente, essas instâncias de analogia foram validadas usando informações referentes à estrutura 3D (10 ECs), através de mineração de dados na base PDB, e informações de domínios proteicos no Pfam (34 ECs). Proteínas dos 24 ECs sem estrutura 3D serão modeladas comparativamente, usando o programa Modeller e informações de estrutura secundária obtidas pelo PSIPRED. Em seguida, a partir dos resultados preliminares, foi possível mapear 24 ECs em 20 vias metabólicas em humanos (KEGG). Outro aspecto importante considerado no estudo foi o mapeamento da estrutura e organização no genoma dos genes que codificam as formas enzimáticas análogas identificadas, através das informações disponíveis na plataforma Ensembl Genome Browser. Foram observados genes envolvidos em analogia nos 24 cromossomos nucleares, porém não foi observado um padrão de distribuição dos mesmos. Finalmente, será feita a análise comparativa da expressão dos genes que codificam as formas análogas identificadas, por meio dos dados de RNA-Seq disponíveis no repositório SRA do NCBI. Ao fim do projeto, espera-se contribuir para a compreensão da importância biológica e do papel evolutivo das enzimas análogas funcionais no genoma humano, esclarecendo os processos de convergência dessas formas enzimáticas, ocorridos durante a evolução de nossa espécie.

OLIMPIADAS NO BRASIL: DESENVOLVIMENTO DO GLOSSÁRIO SURDESORTES PARA ACESSIBILIDADE E INCLUSÃO DA COMUNIDADE SURDA

Barboza CFS, Campello AR, Castro HC

siesclevia@gmail.com

Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular

A Educação Física é uma disciplina presente na educação básica nos níveis fundamental e médio, introduzindo os alunos a uma grande diversidade de conhecimentos, dentre eles os esportes, suas regras e sua relação com a saúde. Neste trabalho temos como objetivo apresentar um glossário de sinais referentes aos esportes olímpicos modernos a partir de um levantamento dos sinais existentes e criação de novos sinais na Língua de Sinais Brasileira (LIBRAS, LSB). O Brasil, que foi sede da Copa do Mundo em 2014, sediará a primeira Olimpíada da América do Sul. Atualmente para surdos temos especificamente, desde o ano de 2000, as Surdolimpíadas, que apresentam em suas competições os mesmos esportes existentes nos jogos olímpicos. Neste contexto, avaliar as condições de receber estes indivíduos surdos usuários de tais línguas e sua compreensão sobre os jogos no Brasil é um tópico ainda a se explorar. Para atingir o objetivo deste trabalho, realizamos um levantamento utilizando palavras chaves como LIBRAS, LSB, esportes, olimpíadas e educação física, em sites de buscas conhecidos além daqueles envolvendo instituições reconhecidas como o site do Instituto Nacional de Educação de Surdos (INES). Observamos que dos 33 esportes relacionados às Olimpíadas Modernas e as Surdolimpíadas selecionados a partir deste estudo, apenas 10 apresentam sinais em LSB no dicionário do INES, presente no site ACESSIBILIDADEBRASIL. De forma preocupante, dentre os sinais encontrados, alguns não seguem a estrutura gramatical da LSB e o visuo-motor correspondente com a atividade física em questão (ex: Atletismo). Na comparação com as línguas de sinais Francesa, Espanhola e Americana, também observamos sinais não correspondentes ao aspecto visuo-motor da atividade física representada. Considerando que 23 esportes não têm sinais na LSB, incluindo a Ginástica Artística e a Vela, que são esportes nos quais o Brasil tem tido grande representação em eventos esportivos, criamos estes sinais respeitando as regras estruturais da LSB. Eles foram fotografados quadro a quadro, gerando o glossário intitulado SurdeSports. O glossário contendo os sinais explicados dos 33 esportes olímpicos em 43 páginas incluindo o nome em inglês, a descrição e nome na língua portuguesa, foi inicialmente construído no programa PowerPoint e inserido no programa pageflip a ser liberado de modo gratuito na internet. Destacando o pioneirismo do Brasil na oferta de acessibilidade comunicacional aos Esportes Olímpicos.

ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS HEPÁTICAS EM PACAS (*Agouti paca*) INFECTADAS POR HELMINTOS ORIUNDAS DO ESTADO DO ACRE, BRASIL

De Oliveira FB, Teixeira PEF, De Alencar ACMB, Das Neves LB, Garcia DD,
Da Cunha FBA, Rodrigues e Silva R

fernandabbio@gmail.com

Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados

Agouti paca é um roedor silvestre caçado para subsistência de humanos e animais no Acre. Helmintos causam doenças hepáticas em mamíferos, incluindo a paca e o fígado pode albergar, por exemplo, vermes adultos e ovos de *Capillaria hepatica* e metacestóides de *Echinococcus vogeli*. Este trabalho visa descrever as características histopatológicas (lesões macro e microscópicas) causadas por helmintos em fígado de pacas de Bujari, Sena Madureira e Xapuri - Acre. Os fígados foram analisados macroscopicamente para a procura de áreas lesionadas e estas foram clivadas e fixadas em formalina a 10%. Dos que não apresentaram lesão, quatro amostras de tecido foram aleatoriamente coletadas. Os fígados com lesões características de *Echinococcus* sp., foram submetidos ainda à extração do conteúdo interno para análise em microscópio. As amostras foram processadas para a confecção de lâminas histológicas e passaram por análise prévia em microscópio após coloração com Hematoxilina e Eosina. Foram obtidos trinta e cinco fígados de pacas em expedições entre agosto de 2011 e julho de 2015. A análise macroscópica das amostras revelou que dez apresentaram lesões (2015-Xapuri), sendo que quatro com características de infecção por *Echinococcus* sp. e seis com um padrão esbranquiçado, em alto relevo, que ainda será esclarecido. Até o momento foi realizado o processamento dos fígados obtidos nas expedições anteriores a 2015 (n=19), todos sem lesões aparentes. As principais características histológicas desse material ainda serão descritas, porém cinco fígados (três de Bujari-2011 e dois de Sena Madureira-2012) apresentaram ovos característicos de *C. hepatica* em partes do tecido. Essas alterações patológicas também serão analisadas. Após análise microscópica espera-se descrever a morfologia dos helmintos e das lesões patológicas decorrentes das infecções, comparando os resultados com os da literatura. Assim como o presente trabalho, outros autores também demonstraram a presença de *C. hepatica* em fígados que não possuíam qualquer lesão macroscópica aparente. Pesquisas histopatológicas em fígado de paca ainda são escassas diante da importância deste roedor em áreas florestais do Acre e a análise do fígado pode propiciar ainda estudos morfológicos, morfométricos e de caracterização molecular dos parasitos ali estabelecidos.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA INFECÇÃO PELO PARVOVIRUS HUMANO B19 EM PACIENTES COM HEPATITES AGUDAS, CRÔNICAS E CRIPTOGÊNICAS

Alves ADR, Leon LAA, Pinto MA

art-dan@hotmail.com

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia

A infecção pelo parvovírus B19 (B19V) normalmente é aguda e autolimitada, podendo causar uma variedade de manifestações clínicas, como: eritema infeccioso e crise aplástica transitória. Estudos relatam a ocorrência de hepatite em pacientes imunocompetentes infectados com B19V, sem infecção por agentes virais comumente hepatotrópicos. As manifestações hepáticas por B19 variam desde alterações bioquímicas no fígado à falência hepática fulminante (FHF). Hepatites criptogênicas constituem um problema na prática da medicina, visto que, uma proporção ainda permanece sem causa determinada mesmo com aspectos de etiologia viral. O objetivo deste trabalho foi estabelecer o diagnóstico molecular para detecção e quantificação de B19-DNA e assim esclarecer o papel do B19V como agente etiológico de hepatites agudas, criptogênicas e fulminantes. Para a padronização das técnicas de PCR qualitativo e em tempo real, inicialmente foi construído um painel de amostras de soro reativas e não-reativas para B19-DNA, além de amostras infectadas com HIV, rubéola e dengue. Em ambos os testes foram sintetizados primers específicos para região NS1 do genoma. Para a PCR em tempo real foi utilizada uma metodologia original de quantificação do B19-DNA, através da utilização de uma curva padrão sintética. Foram avaliados os métodos Sybr green e TaqMan. Após a padronização da PCR qualitativa, foram avaliadas até o momento, 26 amostras de soro de pacientes com FHF, da qual uma amostra foi reativa para B19-DNA. Na padronização do PCR em tempo real utilizando o método de Sybr Green, foi observado um limite de detecção 10^3 cópias/mL e o teste foi capaz de quantificar o B19-DNA de 10^3 a 10^{10} cópias/mL. Com isso, foi possível quantificar 16 amostras controle-positivo, entretanto dentre 11 amostras controle-negativas, 6 apresentaram resultados falso-positivos em amostras de pacientes com dengue e HIV, indicando reação-cruzada. O PCR em tempo real utilizando o método de Taqman, apresentou uma eficiência (R2) de 99% e linearidade entre 10^3 a 10^{12} cópias/mL. Além disso, nenhum resultado falso-positivo ou negativo foi observado, indicando que o método Taqman foi mais apropriado para o diagnóstico. Esses resultados preliminares indicam que a infecção pelo B19 deve ser considerada no diagnóstico diferencial de hepatites criptogênicas e demonstram a importância de estabelecer métodos moleculares sensíveis e específicos para esclarecer os casos de hepatite fulminante sem etiologia definida.

IMPORTÂNCIA DO EXAME DE CONTATOS EXTRADOMICILIARES PARA O CONTROLE DA HANSENÍASE

Nobre ML, Hacker MAVB, Jerônimo SMB, Sarno EN

nobreml@gmail.com

Laboratório de Hanseníase

A hanseníase é um importante problema de saúde pública no Brasil onde recomenda-se a vigilância dos contatos domiciliares como importante atividade para detecção de casos novos da doença. Esse estudo foi desenvolvido com o objetivo de expandir o exame de comunicantes incluindo contatos extradomiciliares, observando a utilidade dessa estratégia para o controle da endemia. A partir do diagnóstico de 18 casos de hanseníase entre 1408 escolares em município hiperendêmico (Mossoró/RN), realizaram-se visitas domiciliares e exame de contatos intra e extradomiciliares dessas crianças. Todos os participantes da pesquisa foram esclarecidos através de TCLE aprovado previamente, sendo os voluntários submetidos a exame dermatoneurológico e coleta de sangue digital para sorologia por ML Flow. As informações sobre casos com diagnóstico anterior foram confirmadas no banco de dados do SINAN. Os dados foram analisados pelo Excell (Microsoft) e Epi Info (CDC versão 7.1.1.14). Até o momento foram examinados 135 comunicantes de 14 escolares, variando de 5 a 20 comunicantes por menor (média de $9,6 \pm 3,4$ pessoas). Foram incluídos 55 comunicantes intradomiciliares e 80 extradomiciliares. Com relação ao sexo, foram examinados 52 homens (38,5%) e 83 mulheres (61,5%). Catorze comunicantes tinham história anterior de hanseníase (10%). Além disso, foram diagnosticados 6 casos novos dentre 121 comunicantes sem diagnóstico prévio (5%). No total, a prevalência da doença foi de 14,8 casos por 100 examinados. Dentre os 115 comunicantes sem hanseníase, 109 realizaram sorologia com ML Flow que foi positiva em 11 indivíduos (10%). Dentre os comunicantes com hanseníase 7 tinham formas paucibacilares e 13 multibacilares. Dentre as possíveis fontes de infecção, 85% eram comunicantes extradomiciliares. Do total examinado 45 comunicantes não tinham cicatriz de BCG (33%). As chances de apresentar hanseníase foram 3 vezes maiores no grupo sem cicatriz vacinal (OR=2,88 IC95% 1,08-7,85). A realização de visitas domiciliares utilizada neste trabalho mostrou-se uma importante estratégia não apenas para a identificação de casos novos da doença, como para a detecção e tratamento das possíveis fontes de infecção, contribuindo para o bloqueio da transmissão do *Mycobacterium leprae* na comunidade. Recomendamos que o exame de comunicantes extradomiciliares seja incluído como atividade rotineira para o controle da endemia no Brasil.

MODULAÇÃO DO METABOLISMO ENERGÉTICO DE CÉLULAS DE SCHWANN PELO *Mycobacterium leprae*

Vasconcelos KG, Luz FK, Medeiros RC, Gandini M, Rosa PS, Pessolani MCV, Moraes MO, Oliveira MF, Sola-Penna M, Lara FA

karina_girardi@hotmail.com

Laboratório de Microbiologia Celular

Lepra, ou doença de Hansen, é uma das doenças mais antigas que afligem os seres humanos, originado a partir da infecção causada pelo *Mycobacterium leprae*. O bacilo afeta principalmente macrófagos e células de Schwann, conduzindo a desmielinização segmentar e perda axonal. Resultados anteriores do nosso grupo demonstraram a modulação do metabolismo energético em células de Schwann da linhagem ST8814 infectadas por *M. leprae*, evidenciando o aumento da captação de glicose. Este aumento não foi acompanhado pelo aumento da via glicolítica, ou a liberação de lactato, gerando potencial elétrico mitocondrial. Foram analisados no presente estudo a modulação da via das pentoses e sua contribuição para a homeostase de lactato e lipídios na célula hospedeira durante a infecção. A expressão gênica de enzimas foi analisada por PCR em Tempo Real. A Quantidade de lactato foi determinado no sobrenadante das culturas através do kit lactato Liquiform. Neste estudo, observou-se que células de schwann infectadas com *M. leprae* mostraram um aumento de três vezes na expressão e atividade de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), seguido por um aumento na síntese de lipídios e uma redução de duas vezes na produção de lactato. G6PD é uma enzima reguladora que catalisa o primeiro passo da via das pentoses fosfato, que gera o NADPH e pentoses. Quando usamos 6-ANAM, inibidor da enzima G6PD, nós recuperamos com sucesso a liberação de lactato por células de Schwann infectadas, reduzindo a viabilidade do *M. leprae*. A modulação da produção de lactato em células de Schwann infectadas pode ser um novo mecanismo de lesão neuronal, com base no fato de que a baixa liberação de lactato por estas células in vivo irá gerar uma privação energética e morte axonal, a inibição da via das pentoses poderia apresentar efeitos terapêuticos sobre a hanseníase, associado a perda da viabilidade do *M. leprae* e restabelecimento da nutrição neuronal.

PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DE *Giardia lamblia* EM CRIANÇAS DE UMA CRECHE NA COMUNIDADE DO SALGUEIRO, RIO DE JANEIRO/BRASIL

Fantinatti M, Cascais TF, Oliveira N, Jardim E, Da-Cruz AM

maria.fantinatti@gmail.com

Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas

Giardia lamblia é um protozoário intestinal que possui distribuição global, atingindo taxas de 2 a 7% em países desenvolvidos e de até 50% em países em desenvolvimento. Embora sejam muito associadas a áreas rurais, a giardiase também constitui um importante problema de saúde pública nos centros urbanos, como o Rio de Janeiro, em virtude do processo crescente de urbanização, o que acarreta a aglomeração de pessoas nas periferias, geralmente em áreas com infra-estrutura sanitária precária. As taxas de infecção por giárdia são pouco investigadas o que faz com que as reais frequências sejam desconhecidas. Neste contexto, as crianças se destacam como um grupo de risco por se apresentarem em fase oral de exploração, com sistema imune imaturo e hábitos de higiene em formação. Os genótipos de *G. lamblia* se encontram classificados de A à G, segundo o hospedeiro que infecta, sendo os genótipos A e B capazes de infectar humanos. O objetivo foi determinar a prevalência de *Giardia lamblia* em uma amostra de crianças frequentadoras de creche na Comunidade do Salgueiro, no Rio de Janeiro/RJ - Brasil. De uma creche localizada na comunidade do Salgueiro, no Rio de Janeiro - Brasil, que abrigava 95 crianças no ano de 2014, foram coletadas 89 amostras de fezes de pré-escolares e estas amostras foram submetidas ao exame parasitológico de fezes (EPF), pelos métodos de Faust, Baermann-Moraes, Kato-Katz e Lutz. As amostras positivas para *G. lamblia* tiveram seu DNA extraído através do Stool Qiagen Mini Kit. O DNA obtido foi submetido a reação da PCR para os genes conservados que codificam a proteína da β -giardina (β -gia) e Glutamato desidrogenase (gdh) e os produtos amplificados foram purificados e sequenciados com o uso do BigDye® Terminator Cycle Sequencing Kit. Os eletroferogramas obtidos foram analisados e comparados com sequências já descritas no GenBank. A partir do EPF foram encontradas amostras positivas: 8/89 (9,0%) amostras para *Ascaris lumbricoides*; 3/89 (3,4%), para *Entamoeba* sp; 4/89 (4,5%), para *Endolimax nana*; e 44/89 (49,4%), para *G. lamblia*. Foram obtidos todos (44) fragmentos de DNA amplificados e 30 eletroferogramas para ambos os genes. Os resultados dos genes se corroboraram e agruparam as amostras nos genótipos A e B. A creche estudada na comunidade do Salgueiro/RJ apresenta uma frequência de 49,4% de *Giardia lamblia* nas crianças e a comunidade apresenta os genótipos A e B circulantes.

INQUÉRITO PARASITOLÓGICO DE PRÉ-ESCOLARES EM UMA COMUNIDADE DO RIO DE JANEIRO/RJ: SUBSÍDIOS PARA ATIVIDADES LÚDICO-EDUCATIVAS

Austríaco-Teixeira P, Fantinatti M, Cascais TF, Da-Costa, TC, Da-Cruz AM

ph-austriaco@hotmail.com

Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas

As parasitoses intestinais constituem um importante problema de saúde pública que resulta em danos representados por quadros diarreicos, desnutrição e déficits físico-cognitivos. Afeta principalmente as comunidades com hábitos de higiene precários e desprovidas de tecnologia em saneamento básico. No Rio de Janeiro, pouco se conhece sobre a situação atual das enteroparasitoses em comunidades de baixo nível socioeconômico. Sabe-se que o controle das enteroparasitoses deve passar por três vertentes: melhoria das condições de saneamento básico, tratamento e educação em saúde. Objetivou-se levantar a prevalência das enteroparasitoses em pré-escolares e a partir dos dados encontrados confeccionar materiais lúdico-educativos para compartilhar o conhecimento sobre características biológicas e epidemiológicas de parasitos intestinais de importância médica, bem como suas consequências com o público infantil. Foi realizado um inquérito parasitológico das crianças (n= 89) frequentadoras de uma creche na comunidade do Salgueiro no município do Rio de Janeiro, através do exame parasitológico de fezes no ano de 2014. Com os resultados foram elaborados materiais lúdico-educativos direcionados para os parasitos encontrados. Verificou-se uma prevalência de 49,4% (44/89) de *Giardia lamblia*, 7,9% (7/89) de *Ascaris lumbricoides*, 4,5%(4/89) de *Entamoeba. coli* e 1,1% (1/89) de *T. trichiura*. Como materiais lúdico-educativos foram formulados: uma maquete para demonstrar o interior de um intestino onde se adere a espécie de protozoário *Giardia lamblia*; o jogo de tabuleiro em tamanho humano direcionado para demonstrar hábitos que favorecem ou desfavorecem a infecção por enteroparasitos; folders educativos informando sobre cada enteroparasitose. Há um grande risco para infecção por enteroparasitos na veiculação hídrica. Assim, necessitamos de intervenções baseadas na descontaminação da água dirigida ao consumo dessas famílias. Também há a necessidade da implementação de atividades preventivas para as geohelmintíases, a fim de evitar que os pré-escolares tenham contato direto com o solo, especialmente em regiões próximas dos locais onde estão dejetos humanos e de animais. Espera-se que os materiais lúdico-educativos sejam usados em estudos futuros de educação em saúde para melhorar o compartilhar de conhecimento entre profissionais de saúde e famílias de comunidades vulneráveis, funcionando como ferramenta informativa para redução do risco de contaminação por parasitos intestinais.

ANÁLISE MOLECULAR DO TEMPO DE PERSISTÊNCIA DA VIABILIDADE DO *M. leprae* EM PACIENTES DO MAL DE HANSEN SOB TRATAMENTO

Neumann AS, Ferreira JS, Lara FA, Rodrigues LS, Pinheiro RO

arthurneumann19@gmail.com

Laboratório de Microbiologia Celular

A Hanseníase, que tem como agente etiológico o bacilo *Mycobacterium leprae*, é uma doença curável por meio do uso da poliquimioterapia (PQT/OMS), composta pela combinação das drogas dapsona, clofazimina e rifampicina administradas em tratamentos longos, que podem chegar a um ano dependendo do grau de bacteremia no momento do diagnóstico. Como não há prevenção primária em hanseníase, isto é, não há uma vacina contra a doença, é consenso que a poliquimioterapia constitui-se hoje como a principal estratégia para interromper a cadeia de transmissão do *M. leprae* e eliminar a hanseníase como problema de saúde pública. Apesar da eficiência do tratamento, o seu uso prolongado provoca uma grande quantidade de efeitos colaterais prejudiciais à saúde do paciente. Até o presente momento não há um estudo fino sobre a viabilidade do bacilo ao longo do tratamento. Isso se deve ao fato do bacilo em questão não ser cultivável in vitro, dessa forma métodos rudimentares, porém de extrema valia, como inoculação de preparações do bacilo em patas de camundongos, são referenciados até hoje como demonstração de eficácia do tratamento. O presente projeto pretende aplicar uma nova metodologia para analisar a viabilidade do *M. leprae* em amostras clínicas ao longo de todo o tratamento: a detecção de RNA do bacilo em questão, que sabidamente é degradado 4 horas após a sua morte, através de PCR em tempo real. Dessa forma pretendemos lançar luz sobre a real eficácia do tratamento ao longo do tempo, identificando falhas por interação medicamentosa ou resistência, tendo como meta a otimização do tratamento e conseqüentemente o abrandamento dos efeitos colaterais do uso prolongado das drogas.

CADERNO DE PRÁTICAS E SOLUÇÕES: ENTRE O SABER E O FAZER

De Paiva APRC, Vargas EP

anaprcp31@gmail.com

Laboratório de Educação em Ambiente e Saúde

Caderno de Práticas e Soluções: uma construção coletiva para a promoção da saúde – consiste em um material didático desenvolvido no Campus Fiocruz Mata Atlântica (CFMA) visando reunir Tecnologias Sociais (TS) voltadas para o território, saúde e ambiente. Um grupo de trabalho composto por diversos atores a partir de Encontros Conversacionais atuou na construção do Caderno de forma participativa. O objetivo foi escrever a construção dos conteúdos do Caderno de Práticas e Soluções (CPS) identificando os aspectos diferenciais relacionados ao processo de desenvolvimento do material. Considerando as ações socioambientais dos projetos/CFMA e a organização/participação dos movimentos sociais na formulação de políticas públicas (CCSP, 2014), as TS consistem em um conjunto de práticas que deram origem aos conteúdos abordados no CPS. Estes foram selecionados e descritos após 18 Encontros Conversacionais entre equipe, moradores, representantes de instituições e lideranças inspirados na construção compartilhada do conhecimento (Oliveira e Valla, 2001) e na Conversação (Rey, 2005). No desenvolvimento dos conteúdos os participantes descreveram seu próprio caminho, e os aspectos significativos do trabalho emergiram na medida em que avançavam as relações entre os envolvidos. O grupo definiu o objetivo do Caderno, os critérios para selecionar as práticas e o formato final do material. Os participantes trouxeram as práticas escritas para o grupo a fim de verificar se atendiam aos critérios estabelecidos para entrar no CPS. Reunidas todas as práticas, agrupou-se nas seções: Saúde, Moradia, Semeando, Lixo?, Experiências Vividas e Cidadania Ativa. A intenção do grupo de trabalho era de produzir um material semelhante a um caderno, visualmente atraente, com práticas de fácil leitura, visando também à promoção da saúde, cujas temáticas fossem relacionadas a alguns dos problemas enfrentados na baixada de Jacarepaguá também presentes em outros territórios. A análise de materiais educativos conjugados a atividades de grupo potencializam a circulação de saberes sobre agravos à saúde em práticas de cuidado integral. Parece-nos de suma importância a participação dos grupos sociais na sua produção. No caso do CPS, estratégias (oficina de redação) oportunizaram uma participação efetiva. Poucos conseguiram escrever o conteúdo de suas experiências, mas todos participaram nas instâncias decisórias.

INTERVENÇÃO PRECOCE OU TARDIA COM O EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE OS EFEITOS MICROCIRCULATÓRIOS E INFLAMATÓRIOS CEREBRAIS EM UM MODELO DE HIPOPERFUSÃO CEREBRAL EM RATOS

Tristão M, Estado V, Borges J, Freitas F, Daliry A, Silveiras RR, Tibiriçá E

ninatristao@yahoo.com.br

Laboratório de Investigação Cardiovascular

A diminuição no fluxo sanguíneo cerebral (FSC) pode estar relacionada com disfunções neurodegenerativas. Nós investigamos o impacto da intervenção com o exercício físico (EF) em um modelo de hipoperfusão cerebral induzida pela oclusão bilateral das carótidas comuns (2VO) quando iniciado 3 dias após a 2VO (precoce) ou 10 dias após a 2VO (tardio). Ratos Wistar Kyoto adultos (12 semanas de idade) foram divididos em grupos 2VO e Sham (controle) submetidos à intervenção precoce ou tardia com o EF (2VO+Ex; Sham+Ex) ou sedentarismo (2VO Sed; Sham Sed). Os animais do grupo EF foram submetidos ao teste incremental máximo (TIM) para a prescrição correta da intensidade do EF, que era composto por 7 dias, durante 30 minutos à 60 % da velocidade máxima do TIM. Após o treinamento físico ou sedentarismo foram avaliados: a densidade capilar funcional (DCF) e a interação leucócito-endotélio pela microscopia intravital por fluorescência; FSC pela fluxometria à laser e a expressão gênica da NADPH-oxidase (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) por PCR em tempo real. Os grupos 2VO Sed apresentaram redução na DCF quando comparados com o controle (2VO Sed Precoce: 226 ± 28 ; 2VO Sed Tardio 243 ± 14 vs. Sham Sed: 355 ± 26 capilares/mm², $p < 0,01$) acompanhada por uma redução de 19% no FSC. O aumento na adesão de leucócitos foi mais evidente no grupo 2VO Sed Precoce quando comparado com controle (2VO Sed Precoce: $5,0 \pm 0,7$ vs. Sham Sed: $0,9 \pm 0,3$ células/mm²/100μm, $p < 0,001$). Ambas as intervenções promoveram melhora na DCF, no entanto somente a intervenção precoce com o EF demonstrou melhora na adesão dos leucócitos à parede venular (2VO+Ex Precoce: $0,9 \pm 0,3$ vs. 2VO Sed Precoce: $5,0 \pm 0,7$ células/mm²/100μm, $p < 0,001$) e embora não tenha apresentado diferença estatística, a intervenção precoce reduziu a expressão gênica da NADPH-oxidase (2VO+Ex Precoce: $1,7 \pm 0,2$ vs. 2VO Sed Precoce: $3,3 \pm 0,9$ APU). Os resultados sugerem que a 2VO induziu rarefação capilar cerebral, queda no FSC e ativação da resposta inflamatória, primordialmente nos animais analisados na intervenção precoce. A intervenção precoce com o EF foi capaz de aumentar FSC e reduzir a adesão dos leucócitos à parede venular. No entanto, esses efeitos foram menos expressivos no grupo de intervenção tardia com o EF. Nossos resultados indicam que o exercício físico precoce apresenta efeitos benéficos na resposta inflamatória e melhora a perfusão microvascular no modelo 2VO.

PAPEL DA AUTOFAGIA NA IMUNOPATOGENESE DA HANSENÍASE

Silva BJA, Andrade PR, Barbosa MGM, Nery JAC, Da Silva GMS, Côrte-Real S, Sarno EN, Pinheiro RO

bjas@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Hanseníase

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica que pode se manifestar em diferentes formas clínicas e há evidências de que o estabelecimento das diferentes formas clínicas seja direcionado por mecanismos inatos da resposta imune. Enquanto nos pacientes lepromatosos (LL) são encontrados macrófagos altamente infectados, em tuberculóides (BT) poucos ou raros bacilos são encontrados. As lesões de pele de pacientes BT apresentam níveis elevados de IFN γ em comparação com as lesões da forma LL. O IFN γ é capaz de ativar diversos mecanismos microbicidas nos macrófagos, entre eles a autofagia. Estudos de microscopia eletrônica demonstraram a presença de *M. leprae* no interior de vacúolos com dupla membrana em macrófagos, sugerindo um possível envolvimento da autofagia na resposta imunomoduladora. No presente estudo foi avaliado o papel da autofagia na resposta imune ao *M. leprae*. Para avaliar a autofagia nós utilizamos as técnicas de microscopia eletrônica de transmissão, Western blotting, qRT-PCR, imunohistoquímica, ELISA e imunofluorescência. A análise ultraestrutural de lesões de pele de pacientes LL e BT mostrou um número maior de autofagossomos em células de lesões de pacientes BT quando comparado aos de LL. Nas células de lesões de pele de pacientes BT, nós observamos um aumento na expressão gênica de genes relacionados ao complexo Beclina-1/PI3K classe III (Beclina-1, Barkor e GFI1B), associado a um aumento da marcação para LC3-II e da expressão elevada dos peptídeos lisossomais Cathelicidina e β -Defensina 2. As células de lesões de pacientes LL apresentaram um acúmulo das proteínas adaptadoras autofágicas p62 e NBR1, indicando uma inibição do fluxo autofágico. Adicionalmente, a análise da expressão de LC3 em macrófagos derivados de lesões de pele hanseníacas, revelou um aumento da expressão de LC3 puntiforme nos macrófagos de pacientes BT, na presença ou ausência de IFN γ , e o tratamento com IFN γ promoveu a fusão autofagossomo-lisossomo em macrófagos de pacientes LL. Por fim, nós encontramos uma expressão aumentada de Bcl-2 nas células de lesões de pele de pacientes LL e uma interação entre Beclina-1 e Bcl-2 nos macrófagos de pacientes LL. Em conjunto, esses dados indicam que a autofagia mediada por Beclina-1 é importante para o controle da infecção por *M. leprae* nas células de lesões de pele. Nos macrófagos lepromatosos, a inibição da autofagia mediada por Beclina-1 contribui para o aumento da carga bacilar.

DENGUE VIRUS TYPE 4 IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO: EPIDEMIOLOGY AND CHARACTERIZATION OF CONFIRMED CASES

**Heringer M, Nogueira RMR, De Filippis AMB, Lima MRQ, Nunes PCG,
Faria NCR, Nogueira FB, Chouin-Carneiro T, Lima DC, Dos Santos FB**

manoela.heringer@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Flavivírus

In 2010, the dengue virus type 4 (DENV-4) re-emerged in Brazil after 28 years. Given the limited options for prevention and control, it has been shown that laboratory diagnosis plays an important role in the Epidemiological Surveillance System. Here, we aimed to describe the epidemiological, laboratory and clinical aspects of the DENV-4 activity in the state of Rio de Janeiro, from 2011 to 2013. A descriptive study on dengue suspected cases received at the Flavivirus Laboratory, IOC/FIOCRUZ, Brazil from January 2011 to December 2013 was performed. A descriptive study on dengue suspected cases received at the Flavivirus Laboratory, IOC/FIOCRUZ, Brazil from January 2011 to December 2013 was performed. The MAC-ELISA was carried out for cases confirmation. The IgG—ELISA was performed for immune response characterization. The RT—PCR and/or virus isolation was performed for serotype identification the Platelia™ Dengue NS1 Ag-ELISA was used for NS1 capture. A total of 703 DENV-4 cases were confirmed in 2011 (n=12), 2012 (n=401) and 2013 (n=290) by any method used in the laboratory. Of those, the RT-PCR was negative in one case. Inoculation into C6/36 cells confirmed 41% (295/703) the cases. NS1 antigen capture confirmed 41,4% (171/413) of the cases tested and after implementing immune complex dissociation methods to the test, the confirmation rate increased to 95,64% (395/413). Our analysis has shown no significant differences between age and gender of patients. Only 10% (27/257) of the cases were considered as severe dengue, and three deaths were reported. It has been shown that laboratorial diagnosis is still a reliable tool for the disease surveillance. The DENV-4 diagnosis by NS1 ELISA was significantly improved by using an immune complex dissociation step and this serotype was more related to milder cases, when compared to the other three serotypes.

REAValiação DA TAXONOMIA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS DE INVERTEBRADOS E PLANTAS

Boucinha C, Morelli KA, Santos-Pereira SM, d'Avila-Levy CM

carolbmartins85@gmail.com

Laboratório de Estudos Integrados em Protozoologia

A ordem Trypanosomatida alberga parasitos da família Trypanosomatidae descritos como protozoários flagelados cuja apomorfia é o cinetoplasto, rede de DNA mitocondrial altamente compactada. O estudo acerca dos tripanossomatídeos monoxênicos (cujo ciclo de vida se dá apenas em um hospedeiro invertebrado) tem sido negligenciado e as principais espécies conhecidas foram classificadas com base exclusivamente na morfologia, ciclo de vida, e hospedeiro de isolamento. Hoje, sabe-se que essas informações, empregadas na taxonomia tradicional para classificar os tripanossomatídeos, nem sempre refletem as relações filogenéticas do grupo. Em vista disso, o objetivo maior deste estudo é revisar a taxonomia de isolados depositados na Coleção de Protozoários da Fiocruz através de análise molecular. Este estudo está centrado num tripé: confirmar a identidade das espécies depositadas (curadoria), reavaliar a taxonomia para que esta reflita as relações filogenéticas do grupo e identificação de novos isolados. Para isso, quatro marcadores moleculares foram utilizados: três alvos nucleares - gGAPDH, V7V8 SSU rRNA e Enol α ; e um alvo que inclui parte do gene mitocondrial COI. A análise dos resultados indica que as seguintes espécies não apresentam divergência genética (0,00%) para os marcadores analisados: *Crithidia hutneri*, *Crithidia luciliae termophila*, *Crithidia confusa*, bem como dois novos isolados de *Crithidia* (que não haviam sido caracterizados), sugerindo que estas espécies representam isolados de uma única espécie válida e, portanto, de acordo com estes dados e as regras da Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN) devem ser sinonimizadas para *Crithidia termophila*. Outro grupo que inclui *C. luciliae* e *Crithidia fasciculata*, bem como um isolado de humano proveniente de Cusco (Perú), cujas características de cultivo e isoenzimas impossibilitaram sua classificação como *Leishmania braziliensis* (espécie frequente na região do isolamento) também não apresentaram divergência genética (0,00%) entre si. Este resultado indica que representam isolados da mesma espécie, e deveriam ser sinonimizados para *C. fasciculata*. Outras espécies depositadas na Coleção estão sendo analisadas e nossos resultados mostram a necessidade urgente de uma ampla revisão taxonômica das espécies de tripanossomatídeos monoxênicos descritas antes da era molecular.

ANÁLISE IN VITRO DA INFECÇÃO DE MACRÓFAGOS MURINOS INOS-KO POR *Purpureocillium lilacinum* AGENTE CAUSAL DA HIALOHIFOMICOSE

De Ponte CGG, De Lima JR, Pedro TQC, De-Luca PM, Borba CM, Antas PRZ

cggp@ioc.fiocruz.br

Laboratório de Imunologia Clínica

Purpureocillium lilacinum (né *Paecilomyces lilacinus*) é atualmente reconhecido como um fungo emergente oportunista, causador da hialohifomicose podendo acometer adultos e crianças, principalmente imunossuprimidos. A doença se apresenta, na maioria dos casos clínicos, como forma subcutânea nodular, tanto em imunocompetentes, como em imunossuprimidos. Praticamente não há dados disponíveis sobre os mecanismos celulares e imunológicos relacionados com essa interação patógeno-hospedeiro. Neste estudo, foram utilizados três isolados distintos de *P. lilacinum*, obtidos a partir de casos clínicos humanos, que interagiram, in vitro, com macrófagos de camundongos transgênicos (iNOS-KO). Os conídios de *P. lilacinum* foram purificados e incubados com macrófagos peritoneais desses camundongos em diferentes tempos a uma razão de 2:1 (conídio:macrófago). Após a infecção, as células foram coradas com “Wright-Giemsa” e visualizadas por microscopia óptica. Além disso, os sobrenadantes foram colhidos para a detecção de metaloproteinase de matriz (MMP)-9 por zimografia, e de IFN- α por ELISA. Após 12 horas de incubação, foram visualizados tubos germinativos fúngicos, sugerindo metabolismo ativo do patógeno, bem como o desenvolvimento de hifas septadas, ramificadas dentro dos macrófagos. Em última análise, às 24 horas, os macrófagos foram completamente destruídos. Diferentes resultados em relação à interação e velocidade de destruição dos macrófagos foram encontrados entre as três cepas utilizadas. No entanto, foram observados níveis normais de MMP-9 e IFN- α . Conclusão: Os resultados aqui mostrados nos permitem concluir que o fungo *P. lilacinum* é capaz de infectar e destruir macrófagos, primeiras células de defesa a interagir com o patógeno, nos camundongos deficientes do gene iNOS. Entretanto, estudos realizados por nosso grupo descreveram que macrófagos de camundongos do tipo selvagem também foram destruídos por esse fungo, demonstrando a capacidade patogênica do mesmo. Estudos adicionais deverão correlacionar esses dados com resultados in vivo para compará-los a outros parâmetros imunológicos.

