



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA APLICADAS



Anais do  
**IV WORKSHOP**  
20 anos PPIPA

13, 14 e 15 de julho | 2011 | Uberlândia | MG



Realização



Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Reitor

Prof. Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto

Diretor de Pós-Graduação

Prof. Dr. Oswaldo Marçal Júnior

Vice-Reitor

Prof. Dr. Darizon Alves de Andrade

Diretor do Instituto de Ciências Biomédicas

Prof. Dr. Marco Aurélio Martins Rodrigues

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação

Prof. Dr. Alcimar Barbosa Santana

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Imunologia  
e Parasitologia Aplicadas

Prof. Dr. José Roberto Mineo

### Comissão organizadora

Coordenação

Profa. Dra. Eloisa Amália Ferro

Prof. Dr. Tiago Wilson Patriarca Mineo

Msc. Priscila Silva Franco

Msc. Henrique Tomaz Gonzaga

### VEICULAÇÃO

VIRTUAL

[www.imunoparasito.ufu.br](http://www.imunoparasito.ufu.br)

### UFU

Av. Pará 1720 - Campus Umuarama

CEP 38400-902- Uberlândia - MG

Telefone: (34) 3218-2111

### PPIPA

Av. Amazonas, s/nº - Bloco 4C - Campus Umuarama

Piso Superior - Sala 218

Telefax: (34) 3218-2333 - [coipa@ufu.br](mailto:coipa@ufu.br)

**Anais do IV Workshop do  
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas  
da Universidade Federal de Uberlândia**

**Breve histórico do Programa de Pós-Graduação e dos eventos científicos organizados**

O Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas (PIPA) foi recomendado pelo Grupo Técnico Consultivo da CAPES em 31 de outubro de 1991 (DAA/GTC/096/91), com início de suas atividades em abril de 1992. Visa formar profissionais diferenciados que atuem nas áreas de Imunologia e Parasitologia e áreas correlatas. O PPIPA desenvolve projetos científicos envolvendo imunologia básica, biotecnologia, estudo da relação parasito-hospedeiro, aspectos moleculares de parasitos, vírus, fungos e bactérias, imunodiagnóstico de doenças parasitárias e epidemiologia de infecções virais e bacterianas.

O I evento organizado pelo PPIPA foi realizado em 1994 intitulado "I Ciclo de Seminários em Imunologia e Parasitologia Aplicadas". Aconteceu no primeiro triênio de existência do Programa. Em 1996, em outubro, o evento passou a ser um Workshop, considerado então a segunda edição. Foi publicado um livro de anais com os trabalhos de pesquisa em andamento e concluídos nos laboratórios da Universidade. Os trabalhos englobaram todas as linhas de pesquisa envolvendo os grandes grupos de interesse: vírus, bactérias, protozoários, helmintos e artrópodes. Como bem definido pelo então Coordenador do PPIPA, Prof. Dr. José R. Mineo *"é de fundamental importância que compartilhem as conquistas e refletirmos sobre nossos acertos e desacertos, traçando os caminhos das ações que irão nortear o futuro. A interação dos pesquisadores convidados a este evento com os discentes e docentes deste curso, certamente muito contribuirá para que alcancemos este objetivo"*. Já o III Workshop aconteceu no ano de 2002, de 4 a 6 de dezembro, e comemorou os 10 anos do Programa. Os alunos egressos e ingressantes apresentaram seus trabalhos de pesquisa ou projetos na forma de comunicação oral ou painéis. Na ocasião, mesas-redondas e palestras abordaram tópicos em Microbiologia, avanços no conhecimento da Parasitologia, Morfologia e modelos de estudos em Imunoparasitologia.

O presente IV Workshop objetiva proporcionar aos discentes desse Programa a oportunidade de apresentar e discutir criticamente os dados referentes aos seus projetos de pesquisa e difundir o atual estágio das atividades de pesquisa em Imunologia, Parasitologia e Microbiologia.

Além disso, o evento será uma oportunidade de reflexão e auto-análise das atividades desenvolvidas durante estes 20 anos de existência do PPIPA e também comemorar a ascensão do nosso conceito junto a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior decorrente da avaliação do último triênio, onde passamos de nota 4 para nota 5.

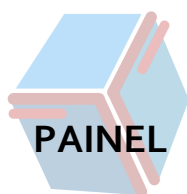
A expectativa da Comissão Organizadora é que todos aproveitem a oportunidade para ampliação dos limites do nosso fazer diário para que juntos continuemos a trilhar o caminho da excelência científica e acadêmica.

# SUMÁRIO




## COMUNICAÇÃO ORAL

<b>A FORMA RECOMBINANTE BASEADA NA PROTEÍNA P21 DE <i>Trypanosoma cruzi</i> INDUZ FAGOCITOSE INESPECÍFICA PELA LIGAÇÃO AO RECEPTOR CXCR4 E SINALIZAÇÃO VIA PI-3 QUINASE</b>	9
<b>PAPEL DA PROTEÍNA SAG2A DE <i>Toxoplasma gondii</i> NA MODULAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE INFLAMATÓRIA DO HOSPEDEIRO</b>	10
<b>ANÁLISE CINÉTICA DA RESPOSTA IMUNE HUMORAL CONTRA A PROTEÍNA RECOMBINANTE SAG2A EM PACIENTES COM TOXOPLASMOSE AGUDA</b>	11
<b>O EFEITO DO FATOR DE INIBIÇÃO DE MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS (MIF) EM EXPLANTES DE PLACENTA INFECTADOS POR <i>T. gondii</i> É DEPENDENTE DA IDADE GESTACIONAL</b>	12
<b>UMA NOVA PROPOSTA DE DETECÇÃO DA ESTRONGILOIDÍASE EXPERIMENTAL UTILIZANDO AMOSTRAS DE LAVADO BRONCO ALVEOLAR</b>	13
<b>REATIVIDADE DE ANTICORPOS A FRAÇÕES ANTIGÊNICAS DE <i>Strongyloides venezuelensis</i> NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA</b>	14
<b>CARACTERIZAÇÃO IMUNOPROTEÔMICA DE ALÉRGENOS DE <i>Dermatophagoides farinae</i> COM REATIVIDADE DIFERENCIAL DE ANTICORPOS IgE, IgG1 E IgG4 ENTRE PACIENTES ATÓPICOS E INDIVÍDUOS NÃO ATÓPICOS</b>	15
<b>COLONIZAÇÃO MUCOSA DE OROFARINGE E O RISCO DE PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO (PAV) POR <i>Staphylococcus aureus</i> EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA (UTI) DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO</b>	16
<b>INFECÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA DE NATUREZA ENDÊMICA E EPIDÊMICA CAUSADA POR <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DO FENÓTIPO METALO-B-LACTAMASE (MBL) EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO</b>	17
<b>RINOVÍRUS HUMANO EM INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS AGUDAS EM CRIANÇAS: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, DUPLA INFECÇÃO COM OUTROS VÍRUS RESPIRATÓRIOS E ASPECTOS CLÍNICOS</b>	18
<b>OOCISTOS DE <i>Hepatozoon canis</i> EM <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i></b>	19
<b>TRANSFERÊNCIA, VIABILIDADE E COLONIZAÇÃO DE <i>Campylobacter jejuni</i> EM VITelo E EMBRIÕES DE FRANGOS</b>	20



<b>FRAÇÕES HIDROFÓBICA E HIDROFÍLICA DE EXTRATOS TOTAIS SALINO E ALCALINO DE <i>Strongyloides venezuelensis</i> NO IMUNODIAGNÓSTICO DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA</b>	22
<b>FRAÇÃO DETERGENTE DE ANTÍGENO HETERÓLOGO NA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-<i>Strongyloides</i> EM AMOSTRAS DE SALIVA E SORO HUMANAS</b>	23
<b>CINÉTICA DE DETECÇÃO DE IMUNOCOMPLEXOS E DE ANTICORPOS EM AMOSTRAS DE SORO DE RATOS IMUNOSSUPRIMIDOS E EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR <i>Strongyloides venezuelensis</i></b>	24
<b>O PROTOZOÁRIO <i>Neospora caninum</i> EVADE A RESPOSTA IMUNE DE HOSPEDEIROS MURINOS POR MEIO DO RECEPTOR INATO DECTINA-1</b>	25
<b>AVALIAÇÃO DO PAPEL DE RECEPTORES TIPO NOD NA INFECÇÃO POR <i>Neospora caninum</i></b>	26
<b>PADRONIZAÇÃO DE MODELO DE INFECÇÃO ORAL EM CAMUNDONGOS COM CISTOS DE <i>Neospora caninum</i> OBTIDOS IN VITRO</b>	27
<b>DETECÇÃO DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS ANTI-<i>Neospora caninum</i> IgG EM DIFERENTES GRUPOS DE PACIENTES IMUNOCOMPROMETIDOS</b>	28
<b>PARTICIPAÇÃO DA PROTEÍNA ADAPTADORA AFAP1NA INVASÃO CELULAR POR <i>Leishmania amazonensis</i> e <i>Trypanosoma cruzi</i></b>	29
<b>ATIVIDADE ANTI- <i>Leishmania</i> E ALTERAÇÕES ULTRAESTRUTURAIS EM PROMASTIGOTAS DE <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i> TRATADAS COM UMA FOSFOLIPASE A<sub>2</sub> ISOLADA DA PEÇONHA DE <i>Bothropoides pauloensis</i></b>	30
<b>ESTUDO DA SUSCETIBILIDADE DE AMASTIGOTAS EXTRACELULARES DAS CEPAS G E CL DE <i>Trypanosoma cruzi</i> A COMPONENTES DO SISTEMA IMUNE INATO E ADAPTATIVO</b>	31
<b>TGF-<math>\beta</math>1 E IFN-<math>\gamma</math> REGULAM POSITIVAMENTE A EXPRESSÃO DE ICAM-1 E A ADESÃO DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS HUMANAS (LINHAGEM BEWO)</b>	32
<b>INFLUÊNCIA DAS CEPAS RH E ME49 DE <i>Toxoplasma gondii</i> NA INDUÇÃO DE APOPTOSE EM CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS (LINHAGEM BEWO) SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM CITOCINAS PRÓ E ANTI-INFLAMATÓRIAS</b>	33

<b>EFEITO DE AZITROMICINA E ESPIRAMICINA NA INVASÃO, REPLICAÇÃO E PRODUÇÃO DE CITOCINAS EM CÉLULAS BEWO INFECTADAS COM <i>Toxoplasma gondii</i></b>	34
<b>CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ANTICORPOS POLICLONAIS IgY ANTI-<i>Toxoplasma gondii</i></b>	35
<b>DETECÇÃO DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS PARA <i>Toxoplasma gondii</i> EM DUAS ESPÉCIES DE JACARÉS DA FAUNA BRASILEIRA (<i>Melanosuchus niger</i> e <i>Caiman crocodilus</i>) POR MEIO DE ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS (ELISA)</b>	36
<b>SELEÇÃO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA PROTEÍNAS DE <i>Toxoplasma gondii</i> VISANDO NOVOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO, PROTOCOLOS VACINAIS E NOVAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS</b>	37
<b>CASO IMPORTADO DE MALÁRIA POR <i>Plasmodium ovale</i> EM UBERLÂNDIA-MG</b>	38
<b>IMPORTÂNCIA DO AMBIENTE, COLONIZAÇÃO NASAL E DAS MÃOS DE PROFISSIONAIS DE SAÚDE NA EPIDEMIOLOGIA DE PNEUMONIAS ASSOCIADAS À VENTILAÇÃO MECÂNICA (PAVS) POR <i>Staphylococcus aureus</i> EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO</b>	39
<b>FATORES DE RISCO QUE INFLUENCIAM A SOBREVIVÊNCIA DE PACIENTES COM INFECÇÕES POR <i>Acinetobacter baumannii</i> MULTIRESISTENTES</b>	40
<b>DETECÇÃO DOS SOROTIPOS 1 E 2 DO VÍRUS DA DENGUE EM UBERLÂNDIA, MG, NO ANO DE 2011</b>	41
<b>ESPÉCIES DE <i>Candida</i> ISOLADAS A PARTIR DE HEMOCULTURA EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO TRIÂNGULO MINEIRO</b>	42
<b>EFEITO DA INDUÇÃO DA INFLAMAÇÃO POR CARRAGENINA NO RECRUTAMENTO PERITONEAL E PRODUÇÃO MEDULAR DE LEUCÓCITOS</b>	43
<b>IMUNOLOGIA DO EXERCÍCIO E SAÚDE</b>	44
 <b>PROJETO DE PESQUISA</b>	
<b>INFECÇÃO POR <i>Entamoeba histolytica</i> E <i>Entamoeba dispar</i> EM PACIENTES PORTADORES DE HIV/AIDS DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE UBERLÂNDIA (HC- UFU), MINAS GERAIS</b>	46
<b>ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE CITOCINAS POR CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS HUMANAS (LINHAGEM BEWO) INFECTADAS POR DOIS ISOLADOS DE <i>Toxoplasma gondii</i> DE UBERLÂNDIA, MG, BRASIL</b>	47

<b>EFEITO DA DEPLEÇÃO DE CÉLULAS T REGULATÓRIAS EM CAMUNDONGOS C57BL/6 NO CONTROLE DA RESPOSTA IMUNE INDUZIDA PELA INFECÇÃO POR <i>Toxoplasma gondii</i></b>	48
<b>ETIOPATOGENIA DE INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA ASSOCIADA A CATETER VENOSO CENTRAL E AVALIAÇÃO DE UM PACOTE DE MEDIDAS NA SUA PREVENÇÃO EM NEONATOS CRÍTICOS</b>	49
<b>ESTUDO COMPARATIVO DA BIOLOGIA DE CARRAPATOS <i>Amblyomma parvum</i> (Aragão: 1908) (Acari: Ixodidae) DE DUAS POPULAÇÕES DISTINTAS QUANDO ALIMENTADOS EM DIVERSAS ESPÉCIES ANIMAIS E AVALIAÇÃO DE ISOLAMENTO REPRODUTIVO ENTRE ELES</b>	50
<b>AVALIAÇÃO DA REPOSTA IMUNE E A VIA DE SINALIZAÇÃO DESENCADEADA PELA TRANSFERÊNCIA ADOTIVA DE CÉLULAS APRESENTADORAS DE ANTÍGENO ESTIMULADAS COM ANTÍGENO SOLÚVEL DE <i>Toxoplasma gondii</i> E DE <i>Neospora caninum</i></b>	51
<b>CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E FUNCIONAL DE PROTEÍNAS DE <i>Toxoplasma gondii</i> HOMÓLOGAS A UMA METALOPROTEASE DE <i>Bothrops moojeni</i></b>	52
<b>UTILIZAÇÃO DE PEPTÍDEOS NATIVOS DOS ANTÍGENOS P30 (SAG1), P22 (SAG2A) E P97 DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM IMUNOENSAIOS APLICADOS EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DE GESTANTES E RECÉM-NASCIDOS COM DIAGNÓSTICO CLÍNICO PRESUNTIVO DE TOXOPLASMOSE RECENTE</b>	53
<b>CARACTERIZAÇÃO DE ANTÍGENOS DE <i>Neospora caninum</i> PARA PRODUÇÃO DE INSUMOS COM VALOR DIAGNÓSTICO, PROFILAXIA E PROTEÇÃO NA NEOSPOROSE</b>	54
<b>FRACIONAMENTO DE ANTÍGENO HETERÓLOGO POR TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS NO IMUNODIAGNÓSTICO DA NEUROCISTICERCOSE HUMANA</b>	55
<b>AVALIAÇÃO DE PEPTÍDEOS NO CONTROLE DA CISTICERCOSE</b>	56
<b>EPIDEMIOLOGIA DE PNEUMONIAS ASSOCIADAS À VENTILAÇÃO MECÂNICA POR <i>Pseudomonas aeruginosa</i> RESISTENTE AO IMIPENEM EM PACIENTES INTERNADOS NA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA ADULTA MISTA DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO</b>	57
<b>EPIDEMIOLOGIA DE PAVS POR <i>Acinetobacter baumannii</i> RESISTENTE AO IMIPENEM EM PACIENTES INTERNADOS EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA (UTI) DE ADULTOS, CLÍNICO-CIRÚRGICA, DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO</b>	58
<b>PRESENÇA DE <i>Streptococcus agalactiae</i> E <i>Escherichia coli</i> NA MUCOSA VAGINAL/PERIANAL DE GESTANTES E SUA CORRELAÇÃO COM SEPSE NEONATAL PRECOCE.</b>	59
<b>IMPACTO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DE FLUIDOS DE CORTE E FORMAÇÃO DE BIOFILME PARA A INDÚSTRIA NACIONAL.</b>	60



# COMUNICAÇÃO ORAL





**A FORMA RECOMBINANTE BASEADA NA PROTEÍNA P21 DE *Trypanosoma cruzi* INDUZ FAGOCITOSE INESPECÍFICA PELA LIGAÇÃO AO RECEPTOR CXCR4 E SINALIZAÇÃO VIA PI-3 QUINASE**

Adele A. Rodrigues<sup>1</sup>, Tatiana M. Clemente<sup>1</sup>, Rafael G. B. Gomes<sup>1</sup>, Paulo César F. Santos<sup>1</sup>, Marlus A. Santos<sup>1</sup>, Fabrício C. Machado<sup>1</sup>, Diana Bahia<sup>2</sup>, Mário C. Cruz<sup>2</sup>, Eloísa A. V. Ferro<sup>1</sup>, Claudio V. Silva<sup>1</sup>

1. Universidade Federal de Uberlândia.

2. Universidade Federal de São Paulo.

e-mail: [adeleaudr@gmail.com](mailto:adeleaudr@gmail.com)

A proteína P21 de *Trypanosoma cruzi* foi há pouco tempo caracterizada e sua possível atuação no processo de internalização do parasito na célula hospedeira foi analisada. Dar continuidade à caracterização funcional da P21 de *T. cruzi* por meio do emprego de sua forma recombinante (P21-His6) é de grande relevância, pois esta poderá futuramente figurar entre os potenciais alvos terapêuticos para o tratamento da doença de Chagas. Para o estudo da atividade da forma recombinante da proteína P21, realizamos ensaios de fagocitose *in vitro*, no qual macrófagos peritoneais de camundongos C57BL/6 foram incubados com partículas de zimozan ou infectados com amastigotas extracelulares de *T. cruzi*, promastigotas de *Leishmania amazonensis* e taquizoítas de *Toxoplasma gondii*, recebendo ou não tratamento com P21-His6. Em seguida, os mesmos ensaios foram repetidos utilizando-se macrófagos de outro modelo animal *Calomys callosus*. Também observamos a imunofluorescência de filamentos de actina em macrófagos tratados ou não com P21-His6. Subsequentemente, testamos alguns inibidores de proteínas envolvidas em processos de sinalização intracelular ou de receptores que poderiam indicar em qual via de sinalização relacionada com a dinâmica do citoesqueleto de actina a P21-His6 está atuando. Os resultados demonstraram que a P21-His6 aumentou a internalização das partículas de zimozan, bem como de todos os parasitos supracitados. Além disso, macrófagos tratados com a proteína apresentaram aumento na polimerização de actina cortical. Foi possível observar que a proteína P21-His6 pode se ligar ao receptor da quimiocina CXCR4. Inibição de sinalização por PI3-quinase, AKT, MEK, MEK 1-2 e ERK inibiu a fagocitose de zimozan e esta não foi restaurada pelo tratamento com a proteína recombinante. Conclui-se, portanto, que P21-His6 é capaz de induzir processo fagocítico inespecificamente devido à atuação da proteína no citoesqueleto de actina cortical, por um processo de sinalização dependente da ligação ao receptor CXCR4, ativação de PI3-quinase, e subsequentemente de AKT, MEK, MEK 1-2 e ERK. Apoio: CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: P21, CXCR4, citoesqueleto de actina.

**PAPEL DA PROTEÍNA SAG2A DE *Toxoplasma gondii* NA MODULAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE  
INFLAMATÓRIA DO HOSPEDEIRO**

Arlindo G. Macêdo Júnior<sup>1</sup>, Jair P. Cunha Junior<sup>1</sup>, Murilo V. Silva<sup>1</sup>, Fernanda M. Santiago<sup>1</sup>, Deise A. O. Silva<sup>1</sup>,  
João S. Silva<sup>2</sup>, Carlos P. Pirovani<sup>3</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>, Tiago W. P. Mineo<sup>1</sup>

1. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

2. FMRP/Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

3. CBG/ Universidade Estadual de Santa Cruz, Bahia, Brasil.

e-mail: agmacedojr@gmail.com

*Toxoplasma gondii* é conhecido por modular a resposta imune pró-inflamatória desencadeada por agonistas de receptores tipo *Toll* e, neste contexto, tem sido amplamente utilizado como modelo de imunomodulação da imunidade inata. O objetivo de nosso trabalho foi avaliar se *T. gondii* utiliza a proteína SAG2A na modulação da resposta inflamatória por macrófagos no contato inicial parasito-hospedeiro. Proteína recombinante SAG2A e SAG2A sem região C-Terminal e taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* foram utilizados em experimentos com macrófagos derivados de medula óssea. Estudos com inibidores de p38, JNK e ERK1/2 foram realizados por inibição química anterior à estimulação celular. O ensaio de parasitismo foi determinado por dosagem colorimétrica a partir da expressão estável de  $\beta$ -galactosidase em cepa tipo I. As concentrações de IL-12, TNF- $\alpha$  e IL-10 foram mensuradas por kits ELISA comerciais e a produção de Óxido Nítrico estimada a partir da concentração de nitrito pelo método de Griess em sobrenadantes obtidos de culturas de macrófagos estimulados. Nossos estudos demonstraram que a imunomodulação induzida pelo parasita é independente da invasão do parasito vivo. O pré-tratamento das células com rSAG2A induziu inibição da produção de nitrito, IL-12 e TNF- $\alpha$ , associado com aumento de IL-10. O bloqueio da proteína de superfície SAG2A por monoclonal específico reverteu a supressão de células ativadas e a inibição da proliferação parasitária. Análises adicionais indicaram que a modulação imune inata induzida através da SAG2A depende da presença da região C-terminal da proteína. A inibição química de MAP quinase impediu a supressão de fatores pró-inflamatórios induzidos pela proteína, tão bem como reduziu a proliferação parasitária. Assim, a presença de SAG2A em *T. gondii* é capaz de modular as respostas imune inatas e contribuir para mecanismos de evasão do parasita frente a resposta efetora induzida pelo hospedeiro. Apoio: UFU, CNPq, FAPESP, FAPEMIG.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, SAG2A, imunomodulação, imunidade inata.

## ANÁLISE CINÉTICA DA RESPOSTA IMUNE HUMORAL CONTRA A PROTEÍNA RECOMBINANTE SAG2A EM PACIENTES COM TOXOPLASMOSE AGUDA

Silas S. Santana<sup>1</sup>, Deise A. O. Silva<sup>1</sup>, Letícia D. Vaz<sup>1</sup>, Carlos P. Pirovani<sup>2</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>, Jair P. Cunha Junior<sup>1</sup>

1. Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil
2. Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, Brasil.

e-mail: silatro@hotmail.com

Múltiplas proteínas recombinantes de *Toxoplasma gondii* têm sido utilizadas em estudos envolvendo o diagnóstico sorológico da infecção por este parasito, principalmente com o intuito de identificar potenciais alvos capazes de diferenciar as fases aguda e crônica da toxoplasmose. O objetivo do trabalho foi avaliar a cinética dos anticorpos IgM, IgA, IgG e subclasses (IgG1 e IgG3) através de imunoenaios realizados em amostras sequenciais de soros humanos, provenientes de pacientes com toxoplasmose aguda, frente ao antígeno recombinante SAG2A e ao antígeno solúvel de *Toxoplasma gondii* (STAg). A cinética dos níveis de anticorpos foi avaliada com a metodologia de ELISA (indireto ou captura) utilizando a proteína recombinante SAG2A ou STAg em amostras de soros sequenciais divididos trimestralmente. A avidéz do anticorpo IgG1 foi analisada por meio de metodologia de *slot-blot* avidéz. Adicionalmente, a razão entre as subclasses IgG3 e IgG1 (IgG3:IgG1) para SAG2A foi determinada em cada momento do estudo. Esta razão foi analisada quanto ao grau de associação com os níveis de anticorpos IgM e IgA específicos para STAg e aos índices avidéz de IgG1 específicos para SAG2A. Foi observado a presença de níveis decrescentes de IgM e IgA para ambos os antígenos utilizados, enquanto que para o isotipo IgG o perfil cinético demonstrou níveis crescentes para ambas as preparações antigênicas. A razão entre IgG3:IgG1 obtida na fase inicial foi significativamente maior para SAG2A em comparação com STAg, com comportamento decrescente para SAG2A e crescente para STAg. Em relação aos índices de avidéz para IgG1, foi observado que amostras de soros de uma fase inicial apresentaram baixa avidéz média de anticorpos IgG1 dirigidos para SAG2A, enquanto que as mesmas amostras demonstraram avidéz média intermediária de IgG1 quando STAg foi utilizado como antígeno. Já em uma fase mais tardia, a avidéz média observada foi alta para STAg e intermediária com SAG2A. Diferentes percentagens de associações entre a razão IgG3/IgG1 e níveis de IgM e IgA específicos para STAg ou índices de avidéz de IgG1 para SAG2A foram encontrados a depender do tempo de infecção. Tomados em conjunto, os dados deste estudo indicam que a determinação de subclasses de IgG específicos para proteína SAG2A e a determinação da razão IgG3/IgG1 podem constituir parâmetros adicionais de imunodiagnóstico para utilização na diferenciação das fases da infecção humana por *T. gondii*, especialmente em situações de indicação de infecção precoce.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, toxoplasmose, diagnóstico sorológico.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

## O EFEITO DO FATOR DE INIBIÇÃO DE MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS (MIF) EM EXPLANTES DE PLACENTA INFECTADOS POR *T. gondii* É DEPENDENTE DA IDADE GESTACIONAL

Angelica O. Gomes<sup>1</sup>, Deise A. O. Silva<sup>1</sup>, Neide M. Silva<sup>1</sup>, Bellisa F. Barbosa<sup>1</sup>, Priscila S. Franco<sup>1</sup>, Mariana B. Angeloni<sup>1</sup>, Marise L. Fermino<sup>2</sup>, Maria C. Roque-Barreiro<sup>2</sup>, Maria C. Santos<sup>3</sup>, Cláudio V. Silva<sup>1</sup>, Tiago W. P. Mineo<sup>1</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>, Eloisa A. V. Ferro<sup>1</sup>

1. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal de Uberlândia.

3. Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

e-mail: angelicagomes@yahoo.com.br

O fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) é uma citocina chave durante a gestação e que apresenta propriedades inflamatórias e atua na defesa contra diversos patógenos. O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos de MIF em explantes de placentas de primeiro e terceiro trimestre de gestação quando infectados com a cepa RH de *Toxoplasma gondii*. Explantes placentários foram tratados com MIF, IL-12, IFN $\gamma$ , TGF- $\beta$  ou IL-10 seguidos pela infecção com taquizoítas da cepa RH de *T. gondii*. Os sobrenadantes do cultivo de explantes foram avaliados quanto a produção de MIF e TGF- $\beta$ . Os explantes foram processados para a análise morfológica, imunohistoquímica e PCR em tempo real. Além disso, os explantes foram tratados com triptofano ou com o inibidor da indoleamina 2,3 dioxigenase (IDO), e/ou com citocinas (MIF ou IFN- $\gamma$ ). A seguir os explantes foram infectados e novamente estimulados. O parasitismo foi quantificado pela atividade da beta galactosidase em ensaio colorimétrico. Observou-se um significativo aumento na liberação de MIF em explantes de primeiro trimestre infectados com *T. gondii* em comparação com os controles (não infectados). Este fenômeno não foi observado em explantes de terceiro trimestre. O parasitismo tecidual foi mais elevado em explantes de terceiro trimestre em comparação com explantes de primeiro trimestre. Além disso, o conteúdo de DNA de *T. gondii* foi mais baixo em explantes placentários tratados com MIF em comparação com explantes não tratados. Entretanto, em explantes de terceiro trimestre o conteúdo de DNA de *T. gondii* foi reduzido somente na concentração mais alta desta citocina. Observou-se por ensaios de imunohistoquímica e PCR Real Time que explantes placentários de primeiro trimestre apresenta uma expressão do receptor de MIF (CD74) mais elevada se comparados com explantes de terceiro trimestre. O efeito de MIF em reduzir o parasitismo na placenta parece estar relacionado com a atividade da IDO uma vez que o aumento de parasitismo observado na presença do inibidor da IDO foi revertido quando o tratamento com o inibidor foi seguido do tratamento com MIF. Em conclusão, MIF foi regulado positivamente e demonstrou ser importante para o controle da infecção por *T. gondii* em explantes de primeiro trimestre. O controle da infecção dependente de MIF parece estar relacionado com a atividade da IDO. A ausência da regulação positiva de MIF em explantes de terceiro trimestre infectados por *T. gondii* pode estar envolvido com a maior suscetibilidade à infecção nesta idade gestacional.

Palavras-chave: MIF, *T. gondii*, explantes placentários.

## UMA NOVA PROPOSTA DE DETECÇÃO DA ESTRONGILOIDÍASE EXPERIMENTAL UTILIZANDO AMOSTRAS DE LAVADO BRONCO ALVEOLAR

Ana Lúcia R. Gonçalves<sup>1</sup>, Cláudio V. da Silva<sup>1</sup>, Marlene T. Ueta<sup>2</sup>, Julia M. Costa-Cruz<sup>1</sup>

1. Universidade Federal de Uberlândia, ICBIM.

2. Universidade Estadual de Campinas, Laboratório de Parasitologia.

e-mail: analuciabio@yahoo.com.br; costacruz@ufu.br

Os conhecimentos a respeito dos mecanismos que o parasito do gênero *Strongyloides* utiliza para evadir da resposta imune do hospedeiro são ainda insipientes. Tendo como modelo experimental o roedor *Rattus norvegicus*, o hospedeiro natural de *Strongyloides venezuelensis*, acredita-se que a padronização de novas reações imunológicas para detecção de antígeno, anticorpo e imunocomplexo representa potencial perspectiva para diagnóstico da infecção humana. Este estudo teve por objetivo avaliar a cinética de detecção de antígeno, anticorpo e imunocomplexo em amostras de lavado bronco alveolar (LBA) de ratos imunossuprimidos ou não e experimentalmente infectados por *S. venezuelensis*. Para a extração do LBA, ratos Wistar imunossuprimidos (grupo I) ou não (grupo II) e experimentalmente infectados com *S. venezuelensis* foram previamente anestesiados para a abertura da cavidade torácica e exposição da traquéia e sacrificados nos dias 2, 5, 8, 13 e 21 após a infecção (p.i). Foram utilizados 6 animais por dia de cada grupo experimental. Para detectar antígeno, o ensaio imunoenzimático foi realizado utilizando gama-globulina anti-*S. venezuelensis* produzida em coelhos e conjugado anti-L3 marcado com peroxidase, para detectar anticorpos utilizou-se extrato alcalino de larvas filarióides e IgG anti-rato marcado com peroxidase e na detecção de imunocomplexo, utilizou-se anti-IgG de *S. venezuelensis* produzida em coelho e IgG anti-rato marcada com peroxidase. A análise estatística foi realizada por ANOVA, seguida pelo teste de Tukey. Foram considerados estatisticamente significantes os dados que apresentaram  $p < 0,05$ . A detecção de antígeno foi observada em toda a cinética em ambos grupos, com diferença estatística entre os ratos do grupo II no dia 2 p.i e os demais em todos os pontos da cinética ( $p < 0,001$ ). A detecção de anticorpo foi mais expressiva nos ratos do grupo I nos dias 5 e 8 p.i, com índices de reatividade mais elevados. A presença de imunocomplexo circulante pode ser observada em ratos dos grupos I e II em toda a cinética, com índices de reatividade mais elevados entre os animais do grupo II, do dia 5 ao 21 p.i ( $p < 0,05$ ). A associação entre a detecção de antígeno e de imunocomplexo em lavado bronco alveolar representa uma ferramenta diagnóstica precoce na estrogiloidíase. Apoio: CAPES, CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: estrogiloidíase, lavado bronco alveolar, imunossupressão.

## REATIVIDADE DE ANTICORPOS A FRAÇÕES ANTIGÊNICAS DE *Strongyloides venezuelensis* NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA

Henrique T. Gonzaga<sup>1</sup>, Jair P. Cunha-Junior<sup>2</sup>, Deise A. O. Silva<sup>2</sup>, Marlene T. Ueta<sup>3</sup>, Julia M. Costa-Cruz<sup>1</sup>

1. Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

3. Laboratório de Helminologia, Universidade Estadual de Campinas.

e-mail: henriquetg@bol.com.br; costacruz@ufu.br

*Strongyloides stercoralis*, nematódeo parasita intestinal, é um dos responsáveis pelas helmintíases negligenciadas em humanos. A detecção precoce previne o desenvolvimento das síndromes clínicas de hiperinfecção e disseminação. Na procura por marcadores de resposta imune na estrogiloidíase, as propriedades antigênicas de componentes glicosilados de *Strongyloides* e o desempenho da avidéz de anticorpos IgG foram testados em imunoenaios. Considerando a importância do imunodiagnóstico da estrogiloidíase e a capacidade de ligação a carboidratos das lectinas, como concanavalina-A (Con-A), foram testados o extrato salino total de larvas filarioides de *S. venezuelensis* (ES) e suas frações obtidas em coluna com Con-A: não ligante (FNL Con-A) e ligante Con-A (FL Con-A) na detecção de imunoglobulinas (IgG e IgA). A determinação de avidéz de IgG foi realizada para detectar pacientes com estrogiloidíase e caracterizar origens de discrepância entre sorologia e coproparasitologia. Sensibilidade (Se), especificidade (Es), *area under curve* (AUC), *likelihood ratio* (LR) e coeficientes de correlação foram calculados; a análise estatística foi realizada pelos testes de Mann Whitney e exato de Fisher. FNL Con-A mostrou os melhores parâmetros diagnósticos para detecção de IgG (Se 95,0%, Es 92,5%, AUC 0,99, LR 12,7) e alta correlação ( $r = 0,700$ ) com o ES. As frações não demonstraram claramente utilidade na detecção de IgA. Índice avidéz (IA) foi calculado para cada amostra de soro considerando: (a) IA de triagem (diluição 1:160) e (b) IA médio a diferentes diluições. Para diferenciar os grupos nos IA de triagem e médio foi estabelecido limiar de 75% ( $p < 0,001$ ). O *immunoblot* avidéz auxiliou na análise de casos discrepantes no ELISA e foi útil como ferramenta complementar na identificação de antígenos responsáveis pela maturação da afinidade. Concluiu-se que FNL Con-A demonstrou conter fonte importante de peptídeos específicos eficientes na detecção de IgG no imunodiagnóstico da estrogiloidíase; e o ensaio de avidéz de IgG distinguiu infecção ativa por *S. stercoralis* com eliminação de larvas dos casos suspeitos ou falso positivos. Apoio: UFU, CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: avidéz, glicoproteínas, sorodiagnóstico.

**CARACTERIZAÇÃO IMUNOPROTEÔMICA DE ALÉRGENOS DE *Dermatophagoides farinae* COM REATIVIDADE DIFERENCIAL DE ANTICORPOS IgE, IgG1 E IgG4 ENTRE PACIENTES ATÓPICOS E INDIVÍDUOS NÃO ATÓPICOS**

Leandro H. Ynoue<sup>1</sup>, Juliana S. Miranda<sup>1</sup>, Karine C. Almeida<sup>1</sup>, Jair P. Cunha-Junior<sup>2</sup>, Carlos P. Pirovani<sup>3</sup>, Deise A. O. Silva<sup>1,2</sup>, Ernesto A. Taketomi<sup>1</sup>

1. Laboratório de Alergia e Imunologia Clínica, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

3. Laboratório de Proteômica, Universidade Estadual de Santa Cruz.

e-mail: lhynoue@gmail.com; eat4y@yahoo.com.br

*Dermatophagoides farinae* (Df) é considerado um dos principais ácaros da poeira domiciliar e uma importante fonte de alérgenos respiratórios no mundo todo. Alguns alérgenos de Df aparecem na forma de isoalérgenos que apresentam mudanças na sequência de aminoácidos ou glicosilação, que pode causar diferenças na sensibilização alérgica. Assim, o objetivo foi investigar a reatividade dos anticorpos IgE, IgG1 e IgG4 às isoformas antigênicas de Df em pacientes atópicos e indivíduos não atópicos, com potencial aplicação para diagnóstico de alergia e para imunoterapia alérgica específica. Indivíduos atópicos (n=60) e não atópicos (n=30) foram selecionados com base no histórico clínico de alergia respiratória e teste cutâneo de puntura (TCP) positivo a alérgenos de Df. O soro dos indivíduos do estudo foram analisados por ELISA para quantificação dos níveis de IgE, IgG1 e IgG4 aos alérgenos de Df. O extrato total de Df foi separado por eletroforese uni- (1-D) e bi- (2-D) dimensionais e subsequentemente analisados por *immunoblot* 1-D e 2D para avaliação do perfil de IgE, IgG1 e IgG4 que reconheceram os componentes do extrato alérgico de Df no soro dos indivíduos atópicos e não atópicos. Resultados: Os níveis de IgE, IgG1 e IgG4 específicos a Df bem como as frequências no perfil de reatividade 1-D foram usados para selecionar os soros utilizados na análise imunoproteômica. O perfil de reatividade de IgE, IgG1 e IgG4 no *immunoblot* 2-D mostrou interessantes padrões de reconhecimento e alguns *spots* puderam ser relacionados a alérgenos hipotéticos conhecidos. Componentes que foram reconhecidos somente por IgE e por IgE/IgG4 no grupo atópico migraram exclusivamente abaixo de 37 kDa enquanto que a ligação somente para IgG1 migrou apenas acima desse limiar. A análise imunoproteômica tanto no grupo atópico quanto no não atópico mostrou um grande número de componentes antigênicos e a maioria deles pôde ser relacionada à alérgenos hipotéticos conhecidos. Além disso, a imunorreatividade dessas proteínas pode ser útil para o sorodiagnóstico e abre oportunidades para o desenvolvimento de imunoterapia personalizada para pacientes com doenças alérgicas.

Palavras-chave: *Dermatophagoides farinae*, alérgenos, imunoproteômica.



**COLONIZAÇÃO MUCOSA DE OROFARINGE E O RISCO DE PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO (PAV)  
POR *Staphylococcus aureus* EM UMA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA (UTI) DE UM HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO**

Michel R. Moreira, Paulo P. Gontijo Filho

Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: moreira.mr@hotmail.com

Pacientes colonizados são o principal reservatório de *S. aureus* em UTIs além de representarem um risco de infecções subsequentes. A PAV é uma infecção grave, mais frequente em países com recursos limitados como o Brasil e há poucos estudos sobre seus aspectos epidemiológicos. O presente estudo objetivou avaliar a colonização da mucosa de orofaringe (OF) de pacientes sob ventilação mecânica (VM) e o risco de PAVs por *S. aureus* susceptível ou resistente à oxacilina, assim como a sua relação com o consumo das principais classes de antibióticos e outros fatores de risco. O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) possui uma UTI mista de adultos com 15 leitos. O estudo foi de coorte, prospectivo, no período de 05/2009 a 08/2010. As culturas das secreções de orofaringe foram feitas em agar manitol salgado na admissão do paciente e a cada 2 dias até a confirmação da colonização. As PAVs foram definidas com base em critérios clínicos, radiológicos e contagem microbiológica  $\geq 10^6$  UFC/ml no aspirado traqueal. O consumo de antimicrobianos foi avaliado por meio da dose diária definida por 1000 pacientes-dia (pd) para os antibióticos: vancomicina, carbapenêmicos e cefalosporinas de amplo espectro. Trabalho aprovado pelo comitê de ética em pesquisas da UFU. Foram incluídos 346 pacientes sob VM com uma frequência de colonização de orofaringe de 36,4%, correspondendo a 63,5% e 36,5% de ORSA e OSSA, respectivamente. O *S. aureus* representou 13,6% das etiologias das PAVs detectadas. O risco de adoecimento por esse microrganismo foi significativo ( $P \leq 0,05$ ), independente se a foi por ORSA ou OSSA. O tempo médio para colonização foi de 5,8 dias para o fenótipo resistente e de 5,0 para o susceptível à oxacilina. A utilização de antibióticos foi alta, particularmente para cefalosporinas de amplo espectro. A elevada densidade de uso de glicopeptídeos foi relacionada com a recuperação de ORSA e a colonização por este fenótipo foi diferente estatisticamente daquela por OSSA por análise multivariada para: idade > 60 anos, terapia antibiótica prévia e uso de carbapenêmicos. Verificou-se uma relação significativa entre a colonização da mucosa de OF e o risco de PAV por ORSA e OSSA e do uso de glicopeptídeos apenas com os pacientes com ORSA. Idade > 60 anos, terapia antibiótica prévia e uso de carbapenêmicos também foram fatores de risco para colonização pelo ORSA.

Palavras-chave: PAVs, *Staphylococcus aureus*, colonização de orofaringe.



**INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA DE NATUREZA ENDÊMICA E EPIDÊMICA CAUSADAS POR *Pseudomonas aeruginosa* Do FENÓTIPO METALO- $\beta$ -LACTAMASE EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

Raquel C. C. Dantas, Melina L. Ferreira, Ana Paula A. Moreira, Deivid W. F. Batistão, Paulo P. Gontijo Filho,

Rosineide M. Ribas

Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: raquelc.dantas@hotmail.com

*Pseudomonas aeruginosa* (PA) produtora de metalo- $\beta$ -lactamase (MBL) tornou-se uma causa importante de infecções em hospitais de grande porte, assim como, um problema terapêutico significativo. O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de PA resistente produtora de MBL em amostras de sangue e de ponta de cateter, considerando também as relações temporal e espacial entre os pacientes. Vigilância laboratorial de infecções hospitalares por PA foi realizada no laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da UFU, no período de maio/09 a dezembro/10. As amostras associadas a infecções de corrente sanguínea e ponta de cateter foram recuperadas e o teste de sinergismo de duplo disco utilizando-se como quelantes: ácido 2-marcaptopropiônico e ácido-etil-diaminotetracético foi realizada para caracterização do fenótipo MBL. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFU. Durante o período de estudo, foram detectados 72 pacientes com 86 episódios de sepse por PA, com a maioria das amostras (59,3%) resistentes à ceftazidima e ou imipenem, com 45% das mesmas produtoras de MBL. As frequências de resistência também foram altas ao aztreonam (56,5%), cefepime (69,5%), fluorquinolonas (69,5%) e gentamicina (52,2%) e, não foi observada resistência a polimixina. As relações temporal e espacial entre os pacientes com infecções por estes microrganismos evidenciaram a ocorrência de clusters na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), Clínicas Médicas e Cirúrgicas. A taxa de incidência de PA por 1000 pacientes-dia foi alta, 1,71, com uma maior incidência na UTI. A taxa de incidência de infecções de corrente sanguínea por PA no Hospital foi alta, (1,71/ 1000 pacientes-dia), na sua maioria por amostras resistentes ao imipenem e multiresistentes, com aproximadamente metade do fenótipo MBL, com evidência de transmissão horizontal, sobretudo na UTI.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*, sepse, MBL.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

**RINOVÍRUS HUMANO EM INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS AGUDAS EM CRIANÇAS EM UBERLÂNDIA, MG:  
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, DUPLA INFECÇÃO COM OUTROS VÍRUS RESPIRATÓRIOS E ASPECTOS  
CLÍNICOS**

Lourenço F. Costa<sup>1</sup>, Thelma F. M. S. Oliveira<sup>1</sup>, Guilherme R. O. Freitas<sup>1</sup>, Edigar H. Dias<sup>1</sup>, Juliana H. Chávez<sup>1</sup>,  
Carlos Ueira<sup>2</sup>, Nayhanne T. Paula<sup>1</sup>, Divina A. O. Queiróz<sup>1</sup>, Jonny Yokosawa<sup>1</sup>

1. Laboratório de Virologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Genética, Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: loufcosta@yahoo.com.br

Os rinovírus humanos (HRV) são uma das principais causas de resfriados comuns em indivíduos de todas as idades. Porém, principalmente em crianças, esses agentes têm sido associados com infecções respiratórias graves envolvendo o trato respiratório inferior. São conhecidos mais de 100 sorotipos dos HRV divididos em três espécies, denominados HRV-A, HRV-B e HRV-C, sendo esta última recentemente caracterizada em decorrência das análises filogenéticas envolvendo regiões genômicas que traduzem o capsídeo viral. Em decorrência de sua importância clínica e epidemiológica, e de sua complexa relação epidemiológico-molecular, o presente estudo tem como objetivos investigar, através da RT-PCR, a presença do HRV em amostras coletadas de crianças de 0-5 anos de idade com doença respiratória aguda, caracterizar molecularmente os HRV detectados e avaliar se há associação entre as espécies de HRV encontradas ou a presença de outro vírus respiratório com o grau de gravidade clínica. De um total de 426 amostras de secreção de nasofaringe disponíveis para serem investigadas, até o momento foram testadas 310 para presença dos HRV e 34,5% (107/310) foram positivas. Dessas 107 amostras, outro vírus respiratório foi detectado, até o momento, em 40 (37,4%), demonstrando a co-infecção, e distribuídos na seguinte proporção: 45% (18/40) vírus respiratório sincicial, 10% (4/40) vírus influenza A, 22,5% (9/40) vírus parainfluenza, 20% (8/40) adenovírus e um caso (2,5%) de metapneumovírus humano. Somente os HRV foram detectados em 21% (29/107) dos casos investigados até o momento para os outros vírus respiratórios. Relacionado aos sintomas clínicos, os casos de pneumonia e bronquiolite, em co-infecções com os HRV, responderam por 37,5% (15/40), enquanto que em infecções somente pelos HRV, esses sintomas responderam por 48,0% (14/29) dos casos. Os resultados obtidos até o momento indicam alta incidência de doenças respiratórias agudas nas quais os HRV foram detectados, decorrendo inclusive em sintomas envolvendo o trato respiratório inferior, mesmo quando a infecção é causada somente pelos HRV. Além disso, em casos de co-infecção, outros vírus respiratórios são frequentemente detectados. A caracterização em espécies dos HRV detectados será realizada através de sequenciamento do ácido nucleico viral. Tanto a presença de co-infecção quanto a espécie do HRV detectada serão analisadas quanto a associação com casos de doença respiratória grave.

Palavras-chave: rinovírus humano, co-infecção, doença respiratória.

**OOCISTOS DE *Hepatozoon canis* EM *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

Renata L. Miranda<sup>1</sup>, Jacqueline R. Castro<sup>1</sup>, Maria Marlene M. Olegário<sup>1</sup>, Osnat Eyal<sup>2</sup>, Dalit Talmi-Frank<sup>2</sup>,  
Márcia C. Cury<sup>1</sup>, Gad Baneth<sup>2</sup>

1. Laboratório de Parasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

2. School of Veterinary Medicine, Hebrew University, P.O. Box 12, Rehovot 76100, Israel.

email: renatavetufu@yahoo.com.br

Hepatozoonose canina é uma doença transmitida por carrapatos causada por protozoários do gênero *Hepatozoon*. Várias espécies de carrapatos têm sido implicadas como vetores potenciais. Assim, extensos estudos são necessários para determinar o ciclo endêmico 'natural' deste parasita. A fim de determinar a prevalência de *Hepatozoon* sp. e possíveis carrapatos vetores para hepatozoonose no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, cães da zona rural foram examinados para carrapatos. Uma fêmea semi-ingurgitada de *R. (Boophilus) microplus* foi coletada de um cão naturalmente infectado por *Hepatozoon* sp. Oito oocistos esporulados foram encontrados em esfregaço da hemolinfa do carrapato. A sequência de DNA do carrapato foi 100% idêntica ao *H. canis* número de acesso no GenBank AY150067.2 e a sequência do cão foi de 98% idêntica ao *H. canis* de mesmo número de adesão no GenBank. A sequência do *H. canis* do carrapato deste estudo foi depositada no GenBank com o número de adesão HQ605710. Análises filogenéticas usando três diferentes algoritmos foram semelhantes e mostraram que as sequências obtidas do cão infectado e do carrapato estão associadas com *H. canis* do Brasil, Itália e Turquia, e diferiam do *Hepatozoon americanum* e *H. felis*. A presença de oocistos maduros de *H. canis* na hemocele do *R. (Boophilus) microplus* é sugestivo que esta espécie de carrapato pode ser um vetor de *H. canis*. Não existem relatos na literatura sobre a presença de oocistos de *Hepatozoon* sp. em *R. (Boophilus) microplus*. Nossos resultados sugerem que *R. (Boophilus) microplus* pode desempenhar um papel na transmissão do *H. canis* para cães, no entanto, a extensão desse papel na manutenção natural de *H. canis* deve ser cuidadosamente avaliada, dado que os cães não são hospedeiros comuns para este carrapato. Obviamente, extensos estudos são necessários para determinar o ciclo endêmico 'natural' deste parasita, visto que a hepatozoonose canina no Brasil é ainda uma questão controversa. Apoio: FAPEMIG.

Palavras-chave: hepatozoonose, vetor, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

## TRANSFERÊNCIA, VIABILIDADE E COLONIZAÇÃO DE *Campylobacter jejuni* EM VITELO E EMBRIÕES DE FRANGOS

Belchiorina B. Fonseca<sup>1,2</sup>, Daise A. Rossi<sup>1</sup>, Roberta T. Melo<sup>1</sup>, Eliane P. Mendonça<sup>1</sup>, Carlos U. Vieira<sup>3</sup>, Marcelo A. Levenhagen<sup>2</sup>, Isabela L. Santos<sup>1</sup>, Marcelo E. Beletti<sup>2</sup>

1. Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada, Universidade Federal de Uberlândia - LABIO- UFU.

2. Centro de Microscopia Eletrônica, Universidade Federal de Uberlândia.

3. Laboratório de Genética, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: bialucas@yahoo.com.br

Campylobacteriose é uma das principais zoonoses de origem alimentar sendo a carne de aves e seus subprodutos as principais fontes de infecção. Apesar da alta incidência de *Campylobacter jejuni* em aves, nesses animais o microrganismo é considerado comensal. Esse estudo teve como objetivos: verificar a possibilidade de *C. jejuni* penetrar e colonizar vitelo de ovos de aves SPF (*specific-pathogen-free*) e ovos de reprodutoras pesadas; avaliar a viabilidade desse microrganismo durante o processo embrionário e seus efeitos para os embriões; avaliar os efeitos da bactéria em explantes intestinais de embriões de aves SPF. Para estudo foram utilizadas as técnicas de cultura em placa, PCR em tempo real, microscopia Eletrônica de Transmissão e RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Foi detectada a passagem de *C. jejuni* em 10% dos ovos de reprodutoras pesadas e 20% de ovos SPF demonstrando a habilidade da bactéria atravessar os poros dos ovos e contaminar os vitelos após três horas de contato com o patógeno. Estes resultados mostram que há risco de contaminação em condições de produção industrial, pois após a ovoposição, há contato de material orgânico como fezes e sangue no exterior dos ovos. Em 80% dos ovos embrionados, analisados, *C. jejuni* sobreviveu durante os 21 dias de incubação levando a uma alta mortalidade embrionária precoce. Além disso, *C. jejuni* aumentou o tamanho dos enterócitos de explantes intestinais de embriões. O estudo indica que além da capacidade de *C. jejuni* penetrar pelos poros das cascas dos ovos ela pode ser um agente patogênico para embriões se comportando não meramente como um microrganismo comensal.

Palavras-chave: explantes intestinais, viabilidade, mortalidade embrionária.



PAINEL



**FRAÇÕES HIDROFÓBICA E HIDROFÍLICA DE EXTRATOS TOTAIS SALINO E ALCALINO DE *Strongyloides venezuelensis* NO IMUNODIAGNÓSTICO DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA**

Nágilla D. Feliciano<sup>1</sup>, Henrique T. Gonzaga<sup>1</sup>, Maria R. F. Gonçalves-Pires<sup>1</sup>, Ana L. R. Gonçalves<sup>1</sup>, Rosângela M. Rodrigues<sup>1</sup>, Marlene T. Ueta<sup>2</sup>, Julia M. Costa-Cruz<sup>1</sup>

1. Laboratório de Parasitologia, Universidade Federal de Uberlândia (UFU/MG).

2. Departamento de Parasitologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP/SP).

e-mail: nagilladf25@hotmail.com; costa-cruz@ufu.br

A estrogiloidíase humana é uma parasitose intestinal de grande importância mundial, geralmente é autolimitada e de baixa morbidade em indivíduos imunocompetentes, mas agrava-se nos imunocomprometidos. Testes diagnósticos utilizando antígenos purificados têm mostrado maior confiabilidade no estudo da estrogiloidíase humana, pois apresentam sensibilidade e especificidade superiores aos antígenos de extratos totais. Este estudo teve como objetivo avaliar e comparar pela primeira vez os extratos totais salino (ES) e alcalino (EA) de *Strongyloides venezuelensis* com suas respectivas frações hidrofóbica (ESD e EAD) e hidrofílica (ESA e EAA) no imunodiagnóstico desta parasitose. As frações antigênicas foram obtidas a partir dos extratos totais por fracionamento com Triton X-114 e testadas em amostras de soro para detecção de IgG por ELISA e *immunoblotting* (IB). Foram analisadas 120 amostras de soro: 40 pacientes com estrogiloidíase, 40 pacientes com outras parasitoses intestinais e 40 indivíduos saudáveis, todos foram submetidos a exames parasitológicos de fezes pelos métodos de Baermann e Lutz. Utilizou-se o teste Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para análise estatística ( $p < 0,05$ ). Para cada preparação antigênica a sensibilidade, especificidade e eficiência do diagnóstico no teste ELISA foram 90%, 90% e 90% (ES); 95%, 95% e 95% (ESD); 90%, 90% e 90% (ESA) e 92,5%, 93,8% e 93,3% (EA); 87,5%, 88,8% e 78,3% (EAD) e 77,5%, 78,8% e 78,3% (EAA) respectivamente e no IB foram 95%, 92,5% e 93,3% (ES); 95%, 96,3% e 95,8% (ESD); 82,5%, 97,5% e 92,5% (ESA); 90%, 95% e 93,3% (EA); 92,5%, 95% e 94,2% (EAD) e 45%, 100% e 81,7% (EAA) respectivamente. No IB cada extrato demonstrou um perfil diferente de componentes antigênicos imunodominantes com variações entre as bandas de peso molecular aparente de 126-90, 90, 55, 45-41, 45-33, 33 e 28 kDa. A fração hidrofóbica obtida do extrato salino total de *S. venezuelensis* mostrou maior eficiência de diagnóstico para o ELISA e IB e pode ser utilizada como antígeno heterólogo alternativo no imunodiagnóstico da estrogiloidíase humana. Apoio: CAPES, CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: estrogiloidíase, imunodiagnóstico, antígenos.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

## FRAÇÃO DETERGENTE DE ANTÍGENO HETERÓLOGO NA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI- *Strongyloides* EM AMOSTRAS DE SALIVA E SORO HUMANAS

Vanessa S. Ribeiro<sup>1</sup>, Nágilla D. Feliciano<sup>1</sup>, Henrique T. Gonzaga<sup>1</sup>, Maria R. F. Gonçalves-Pires<sup>1</sup>, Idessania N. Costa<sup>1</sup>, Marlene T. Ueta<sup>2</sup>, Julia M. Costa-Cruz<sup>1</sup>

1. Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Parasitologia, Universidade de Campinas.

e-mail: van18\_ufu@yahoo.com.br; costa-cruz@ufu.br

A estrogiloidíase é uma doença frequentemente assintomática, porém, no quadro agudo pode causar sintomas abdominais. Na forma crônica da doença os sintomas podem ser graves ou leves, dependendo da intensidade da infecção, sendo as formas mais graves encontradas em pacientes imunocomprometidos. O diagnóstico definitivo da doença, normalmente, é realizado pelo encontro de larvas nas fezes. Entretanto, na maioria dos casos a detecção é dificultada pela eliminação pequena e irregular de larvas nas fezes. Atualmente os ensaios de detecção de anticorpos, utilizando antígenos heterólogos fracionados têm demonstrado alta aplicabilidade no diagnóstico mostrando resultados satisfatórios. O objetivo deste estudo foi comparar o extrato salino total (ES) de *Strongyloides venezuelensis* e sua fração detergente (D) na detecção de IgA e IgG anti – *Strongyloides stercoralis* em amostras pareadas de saliva e soro humanas. A fração detergente (hidrofóbica) foi obtida a partir do extrato total (*S. venezuelensis*) por fracionamento com o detergente não iônico Triton X-114. Os extratos foram avaliados pelo teste ELISA em amostras de saliva e soro, sendo: 25 de pacientes com estrogiloidíase confirmada clínica e laboratorialmente, pela presença de larvas nas fezes (Grupo 1), 25 de pacientes com outras parasitoses intestinais (Grupo 2) e 20 de indivíduos saudáveis (Grupo 3). Foi calculada a sensibilidade, especificidade e eficiência do diagnóstico para a detecção de IgA e IgG. Os dados de eficiência diagnóstica (acurácia) do ES para detecção de IgA e IgG, na saliva e soro foram respectivamente: 78,6% e 77,1% para IgA e 72,9% e 68,6% para IgG. Quando se utilizou a fração D observou-se os seguintes valores: 84,3% e 84,3% para IgA e 88,6 e 85,7%, respectivamente. A fração detergente mostrou maior eficiência de diagnóstico no teste ELISA para detecção de IgA e IgG tanto em amostras de saliva quanto de soro. Os bons resultados obtidos fazem desta fração potencialmente aplicável, tanto no diagnóstico da estrogiloidíase quanto em estudos soropidemiológicos ou de triagem. Apoio: FAPEMIG.

Palavras-chave: estrogiloidíase, sorodiagnóstico, antígenos heterólogos.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

**CINÉTICA DE DETECÇÃO DE IMUNOCOMPLEXOS E DE ANTICORPOS EM AMOSTRAS DE SORO DE RATOS  
IMUNOSSUPRIMIDOS E EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR *Strongyloides venezuelensis***

Ana Lúcia R. Gonçalves<sup>1</sup>, Cláudio V. Silva<sup>1</sup>, Marlene T. Ueta<sup>2</sup>, Julia M. Costa-Cruz<sup>1</sup>

1. Universidade Federal de Uberlândia, ICBIM.

2. Universidade Estadual de Campinas, Laboratório de Parasitologia.

e-mail: analuciabio@yahoo.com.br; costacruz@ufu.br

O parasito *Strongyloides venezuelensis* tem sido utilizado em modelo experimental de roedores, para o estudo da estrogiloidíase humana. Uma variedade de métodos imunológicos de detecção de anticorpos vem sendo investigada, na perspectiva de que sejam mais sensíveis que o exame parasitológico; no entanto, não são utilizáveis para diferenciação entre a infecção crônica e a infecção ativa. Este estudo teve por objetivo detectar imunocomplexos e anticorpos em amostras de soro de ratos imunossuprimidos ou não e infectados por *S. venezuelensis*. As amostras de sangue foram colhidas de ratos Wistar imunossuprimidos (grupo I) ou não (grupo II) e experimentalmente infectados com *S. venezuelensis* nos dias 5, 8, 13 e 21 após a infecção (p.i) e centrifugadas para a obtenção do soro. Foram utilizados 6 animais por dia de cada grupo experimental. Para a detecção de imunocomplexo foi realizado ELISA utilizando anti-IgG de *S. venezuelensis* produzida em coelho e IgG anti-rato marcada com peroxidase e para detectar anticorpos utilizou-se extratos alcalinos de larvas filarióides e IgG anti-rato marcada com peroxidase. A análise estatística foi realizada por ANOVA, seguida pelo teste de Tukey. Foram considerados estatisticamente significantes os dados que apresentaram  $p < 0,05$ . A detecção de imunocomplexo no grupo I foi observada durante toda a cinética e no grupo II, foi significativamente reduzida no dia 21 p.i ( $p < 0,05$ ). Os resultados revelaram que IgG total para L3 de *S. venezuelensis* foi preferencialmente detectada durante os primeiros 13 dias p.i no grupo II enquanto que no grupo I foi observada a detecção em toda a cinética. A detecção de imunocomplexo é uma alternativa para o diagnóstico precoce da estrogiloidíase em indivíduos imunossuprimidos. Apoio: CAPES, CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: imunocomplexo, imunossupressão, estrogiloidíase.





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

## O PROTOZOÁRIO *Neospora caninum* EVADE A RESPOSTA IMUNE DE HOSPEDEIROS MURINOS POR MEIO DO RECEPTOR INATO DECTINA-1

Murilo V. Silva, Arlindo G. M. Júnior, Fernanda M. Santiago, Pollyanna C. A. Vieira, Flávia B. Ferreira, Deise A. O. Silva, José R. Mineo, Tiago W. P. Mineo

Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: murilo.ufu@gmail.com; tiagomineo@gmail.com

O protozoário *Neospora caninum* está associado a abortos bovinos desde a década de 90. Apesar de não haverem estudos que indicam as perdas globais ou nacionais, trabalhos isolados estimam que o custo da neosporose possa ser grandioso. Em paralelo, estudos recentes demonstram que as células imunes inatas dos hospedeiros reconhecem antígenos de *N. caninum* por meio de receptores de reconhecimento padrão. Neste sentido, este trabalho objetivou avaliar o papel do receptor inato Dectina-1 durante a infecção por este protozoário. Para isso, foram utilizados camundongos da linhagem C57BL/6 e macrófagos derivados de medula óssea dos mesmos. Macrófagos foram pré-tratados ou não com Laminarina (inibidor competitivo de Dectina-1) e, posteriormente, incubados com taquizoítos viáveis de *N. caninum* por 24 horas, para análise da produção de citocinas em sobrenadante de cultura. Camundongos C57BL/6 foram tratados com Laminarina (1mg/animal/dia) por 7 dias e infectados com *N. caninum* no quarto dia de tratamento. Para análise de parasitismo celular e da produção de ROS e NO em células do peritônio durante a fase aguda da infecção, os animais foram eutanasiados no terceiro dia pós-infecção. Para determinação do parasitismo e inflamação cerebral de fase crônica, perfil de imunoglobulinas, e sobrevida, os animais foram observados por 30 dias. Ficou demonstrado que Dectina-1 reconhece *N. caninum*, e participa da modulação da resposta imune por este parasito, uma vez que a produção das citocinas pró-inflamatórias (IL-12 e IL-6) foi significativamente aumentada quando macrófagos foram pré-tratados com Laminarina. Adicionalmente, foi verificado que animais tratados com Laminarina apresentaram maior produção de ROS e menor percentual de células peritoneais infectadas no terceiro dia pós-infecção. Estes animais também apresentaram, no trigésimo dia pós-infecção, parasitismo e inflamação cerebral menor que o grupo não tratado, além de uma menor produção de IgG1 e maior sobrevida. Assim, os resultados indicam que Dectina-1 participa do mecanismo de evasão do parasito frente o sistema imune do hospedeiro, podendo ser um possível alvo para o desenvolvimento de medidas profiláticas e terapêuticas contra esta infecção.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, dectina-1, macrófagos.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

### AVALIAÇÃO DO PAPEL DE RECEPTORES TIPO NOD NA INFECÇÃO POR *Neospora caninum*

Marcela D. Ferreira<sup>1</sup>, Denise M. Fonseca<sup>2</sup>, Djalma S. Lima Júnior<sup>2</sup>, Angelica O. Gomes<sup>1</sup>, Arlindo G. Macêdo Júnior<sup>1</sup>, Caroline M. Mota<sup>1</sup>, Murilo V. Silva<sup>1</sup>, Dario S. Zamboni<sup>2</sup>, João S. Silva<sup>2</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>, Tiago W. P. Mineo<sup>1</sup>

1. Laboratório de Imunoparasitologia. Universidade Federal de Uberlândia.

2. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo.

e-mail: marcela.davoli@hotmail.com

*Neospora caninum* é um parasito pertencente ao filo Apicomplexa que foi descrito pela primeira vez como a causa de encefalomielite em cães sorologicamente negativos para *T. gondii*. A infecção por este protozoário é a principal causa identificável de falência reprodutiva em gado em todo o mundo, causando perdas econômicas consideráveis. Receptores tipo Nod (NLRs) pertencem a uma família de proteínas especializadas que apresentam papel crucial na regulação da resposta imune inata do hospedeiro. Entretanto, o papel desses receptores na detecção de parasitos intracelulares ainda não está bem definido. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é investigar o papel dos receptores tipo Nod na resposta do hospedeiro frente à infecção por *N. caninum*. Com essa finalidade, nós infectamos camundongos Nod1<sup>-/-</sup>, Nod2<sup>-/-</sup> e Rip2<sup>-/-</sup>, bem como animais C57BL/6 selvagens, com taquizoítos de *N. caninum* e avaliamos o parasitismo, a migração de células inflamatórias e o perfil de citocinas produzido. Durante a fase aguda, os camundongos Nod2<sup>-/-</sup> demonstraram maior susceptibilidade frente à infecção pelo parasito, apresentando elevada carga parasitária no exsudato peritoneal e no tecido pulmonar. A migração de células inflamatórias foi prejudicada em ambos os compartimentos e Nod2<sup>-/-</sup> apresentaram diminuição da migração de células dendríticas, bem como de linfócitos T e B na cavidade peritoneal. Infiltrados de células mononucleares também se mostraram significativamente reduzidos ou ausentes nos pulmões de camundongos Nod2<sup>-/-</sup> quando comparados com camundongos selvagens. Paralelamente, observou-se que células dendríticas e macrófagos apresentaram baixa expressão de moléculas do MHCII em camundongos Nod2<sup>-/-</sup>, fato que está associado com a diminuição na produção de IFN- $\gamma$  em sobrenadantes de cultura de esplenócitos previamente estimulados e em homogenatos de cérebros e pulmões desses animais, de forma independente de IL-10. Corroborando com os resultados obtidos, a proporção de anticorpos IgG2a/IgG1 específicos para o parasito, após 40 dias de infecção, mostrou-se também alterada em camundongos Nod2<sup>-/-</sup>, indicando que a indução de resposta TH1 nesses animais parece ter sido prejudicada nesses animais. Foi escrito previamente por nosso grupo, que TLR2 é importante na indução de uma resposta TH1 apropriada frente à infecção por este protozoário e, baseado nos resultados obtidos nesse trabalho, sugerimos que Nod2<sup>-/-</sup> tem papel complementar na indução de resposta TH1 durante a fase inicial da resposta imune do hospedeiro ao *N. caninum*.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, resposta imune inata, receptores tipo-Nod.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

**PADRONIZAÇÃO DE MODELO DE INFECÇÃO ORAL EM CAMUNDONGOS COM CISTOS DE *Neospora caninum* OBTIDOS IN VITRO**

Pollyanna C. A. Vieira, Murilo V. Silva, Arlindo G. M. Júnior, Flávia B. Ferreira, Fernanda M. Santiago, Deise A. O. Silva, José R. Mineo, Tiago W. P. Mineo

Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: polly66vet@gmail.com; tiagomineo@gmail.com

O protozoário *Neospora caninum* foi descrito no final dos anos 80 como responsável por doenças neuromusculares em cães e, desde a década de 90, está associado também a abortos bovinos. Trabalhos isolados estimam que o custo da neosporose seja grandioso, visto que animais soropositivos para *N. caninum* podem ser encontrados na maioria dos rebanhos, independente do clima e da região geográfica. Assim, o estabelecimento de um modelo experimental adequado faz-se necessário para a melhoria das condições de pesquisa, uma vez que não existe um modelo de infecção que mimetize as condições naturais de contato entre o patógeno e o hospedeiro. Neste sentido, este trabalho objetivou padronizar ensaios de infecção de camundongos C57BL/6 por via oral, com o uso de cistos obtidos *in vitro*. Para isso, os ensaios foram realizados em sistema de cultura de células, utilizando células HeLa infectadas com taquizoítos viáveis de *N. caninum*, cultivados com nitroprussiato de sódio (SNP) por 7 dias. Posteriormente, realizou-se marcações com DBA (*lectin Dolichos biflorus agglutinin*) e IgY anti-*Neospora caninum*, para identificação dos cistos devido à marcação da parede destes. Os cistos obtidos foram separados por Dextran (30%), contados e administrados por via oral a um grupo de camundongos e, como controle, foram administrados taquizoítos livres de *N. caninum* a outro grupo de animais. Adicionalmente, foram analisadas a curva de sobrevivência, e dados de morbidade destes animais por um período de 30 dias, além da cinética da produção de IgG<sub>total</sub> nos dias 10, 20 e 30 pós-infecção. Durante o período observado, verificamos que não houve diferenças significativas em relação à mortalidade, peso e condição de escore corporal entre os grupos. Entretanto, verificamos que houve soroconversão dos camundongos infectados com os cistos derivados de cultura celular, com maior produção de IgG específicas no 20º dia pós-infecção. Assim, os resultados indicam que os cistos obtidos *in vitro* são viáveis e resistem ao pH e às condições do trato gástrico dos animais, podendo ser utilizados como modelo de infecção.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, cistos, infecção oral.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

## DETECÇÃO DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS ANTI-*Neospora caninum* IgG EM DIFERENTES GRUPOS DE PACIENTES IMUNOCOMPROMETIDOS

Fernanda M. Santiago, Janaína Lobato, Dâmaso P. Ribeiro, Caroline M. Motta, Tiago W. P. Mineo, Deise A. O. Silva, José R. Mineo

Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: nandasantiago@hotmail.com

*Neospora caninum* é um parasita intracelular descrito primeiramente em cães com distúrbios neurológicos, sendo atualmente considerado como o grande responsável na causam de aborto em bovinos. *N. caninum* está intimamente relacionado com *Toxoplasma gondii*, devido às similaridades ultraestruturais e genéticas. Estudos sorológicos têm demonstrado a presença de anticorpos contra *N. caninum* em soros humanos, particularmente em pacientes soropositivos para o HIV, indicando a susceptibilidade a este parasita. Este trabalho teve como objetivo investigar a presença de anticorpos IgG para *N. caninum* e *T. gondii* em diferentes grupos de pacientes imunocomprometidos e doadores de sangue saudáveis, e para estabelecer o grau de reatividade cruzada entre os parasitas. Cinco grupos de pacientes, num total de 319 amostras de soro, foram analisados, como segue: HIV (HIV-soropositivos, n = 56), T (pacientes transplantados, n = 60), N (pacientes com neoplasia, n = 87), H (pacientes em hemodiálise, n = 52) e BD (doadores de sangue, n = 64). Anticorpos IgG para *N. caninum* (Nc) e *T. gondii* (Tg) foram detectados por imunoenaios enzimáticos (ELISA). Amostras Nc-soropositivas foram testadas pelo immunoblotting e o grau de reatividade cruzada analisado por ELISA inibição. Os resultados pelo ELISA mostraram que a soropositividade para Nc foi significativamente maior em pacientes HIV (43%) em relação ao grupo BD (21%) e outros grupos de imunocomprometidos (15-17%). A soropositividade para ambos Tg e Nc foi maior em pacientes HIV (36%) em relação a demais grupos (12-19%), enquanto a soropositividade apenas para Nc não demonstrou diferença significativa entre pacientes HIV (7%) e outros grupos (1-3%). Quanto à soropositividade para Tg foi significativamente maior nos grupos de T, N e H (73-77%) quando comparados com os pacientes HIV e BD (55-61%). Para o ELISA-inibição foram observados que soros dos grupos T, N e BD apresentaram maior inibição (66-100%) após o tratamento prévio com o antígeno solúvel de Tg quando comparado com soros de pacientes HIV e H (45-50% de inibição). Portanto a presença de anticorpos IgG para *N. caninum* foi predominantemente detectado em pacientes HIV e mostrou positividade concomitante alta para *T. gondii*. Além disso, a reatividade cruzada com *T. gondii* foi observada principalmente nos grupos T, N e BD, enquanto os pacientes HIV ou H mantiveram soropositividade para *N. caninum* depois de inibição com os parasitas intimamente relacionados. Outros grupos de pacientes imunocomprometidos não mostraram diferença na suscetibilidade à *N. caninum* em relação a pacientes saudáveis. Apoio: FAPEMIG, CNPq, CAPES.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, pacientes imunocomprometidos.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

**PARTICIPAÇÃO DA PROTEÍNA ADAPTADORA AFAP1 NA INVASÃO CELULAR POR *Leishmania amazonensis* E *Trypanosoma cruzi***

Fabrcio C. Machado, Cláudio V. da Silva

Laboratório de Tripanossomatídeos, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: [fabriciomachado@live.com](mailto:fabriciomachado@live.com)

AFAP1 é uma proteína adaptadora pertencente à família AFAP (*actin-filament associated protein*). É característica dessa família a presença de diversos domínios (Ex.: SH3, SH2, PH, bZip e ABP) que permitem interações específicas com outras proteínas. Nesse contexto, já foi demonstrado forte afinidade da AFAP1 por filamentos de actina e pelo c-Src (responsáveis, respectivamente, pelo arranjo, desarranjo e remodelagem do citoesqueleto de actina além da promoção de mudanças na aderência e nas habilidades invasivas da célula). A partir desse conhecimento, podemos assumir que a AFAP1 pode estar presente no processo de invasão de parasitas como a *Leishmania amazonensis* e o *Trypanosoma cruzi*. Portanto, com o objetivo de verificar o papel dessa proteína durante o tráfego intracelular desses parasitas, macrófagos peritoneais e células HeLa foram submetidas à invasão por *L. amazonensis* e *T. cruzi* e marcados com anticorpos para a AFAP1, cedidos gentilmente pelo Dr. Youngjin Cho (The Commonwealth Medical College, Scranton, EUA). Para a cinética de invasão de *L. amazonensis*, macrófagos foram obtidos por lavagem peritoneal de camundongos C57BL/6 feita três dias após injeção de 1mL de tioglicolato 3%. Em placas de 24 poços,  $2 \times 10^5$  macrófagos ou  $1 \times 10^5$  de células HeLa, foram plaqueados e tiveram um período de 18 horas para aderirem antes de serem incubados com  $4 \times 10^6$  de *L. amazonensis* ou *T. cruzi*, respectivamente. Após 15 minutos de incubação, os poços foram lavados duas vezes com PBS e mantidos em DMEM enriquecido com 10% Soro Fetal Bovino. Tempos de invasão de 15min, 30min, 1h, 3h, 6h e 12h foram fixados com formaldeído 4% e mantidos em PGN (PBS + gelatina + azida) para posterior análise. As lamínulas foram incubadas com o anticorpo para AFAP1 (diluído 1:50 em PGN + 0,1% de saponina), se seguindo de três lavagens em PBS e uma nova incubação com o anticorpo secundário (1:100), DAPI (1:500) e faloidina-TRITC (1:1000). Por fim as lâminas foram preparadas e analisadas no Microscópio Confocal do Laboratório de Microscopia da Universidade Federal de Uberlândia. Nossos resultados demonstraram que a proteína AFAP1 está presente no sítio de entrada da *L. amazonensis* e do *T. cruzi*, e que existe uma co-localização com actina nos tempos iniciais da invasão. Esses resultados são inéditos na literatura científica e indicam que a AFAP1 é um dos membros envolvidos na invasão celular por parasitas da família Trypanosomatidae. Apoio: CAPES, CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: tráfego intracelular, Trypanosomatidae, actina.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

**ATIVIDADE ANTI- *Leishmania* E ALTERAÇÕES ULTRAESTRUTURAIS EM PROMASTIGOTAS DE *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* TRATADAS COM UMA FOSFOLIPASE A<sub>2</sub> ISOLADA DA PEÇONHA DE *Bothropoides pauloensis***

Débora C. O. Nunes<sup>1</sup>, Maria A. Souza<sup>2</sup>, Eloísa A. V. Ferro<sup>3</sup>, Veridiana M. Rodrigues<sup>1</sup>, Kelly A. G. Yoneyama<sup>1</sup>

1. Laboratório Química de Proteínas e Produtos Naturais, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Uberlândia.

3. Departamento de Morfologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: nunesdco@yahoo.com.br

A leishmaniose é um grupo de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. O tratamento disponível atualmente para esta doença apresenta alta toxicidade, elevado custo, resistência do parasito, além de dificuldades de cura. Assim, o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas da leishmaniose torna-se indispensável e, neste sentido, as peçonhas de serpente aparecem como uma importante fonte natural de biomoléculas farmacologicamente ativas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de uma fosfolipase A<sub>2</sub> (BnSP-7), cataliticamente inativa, da peçonha de *Bothropoides pauloensis*, sobre formas promastigota de *L. (Leishmania) amazonensis*. Para isso nós realizamos teste de viabilidade celular por MTT, no qual  $1 \times 10^6$  parasitos/mL, cultivados em meio Schneider com 10% de SFB, penicilina (100UI/mL) e estreptomicina (100µg/mL), foram incubados com diferentes concentrações de toxina (200 - 1,56µg/mL de BnSP-7 dissolvida em DMSO) por 72h. Posteriormente, solução de MTT (5mg/mL) foi adicionada à placa, procedeu-se a incubação, a dissolução dos grânulos de Formazan e a absorbância foi medida a 595nm. Para a curva de crescimento,  $1 \times 10^7$  parasitos/mL foram tratados com BnSP-7 (200-25µg/mL) e a densidade celular para cada concentração foi determinada por contagem diariamente até 96h de tratamento. Os estudos morfológicos foram desenvolvidos com parasitos tratados por 72h com BnSP-7 (200µg/mL). Para a microscopia óptica, parasitos foram fixados com formaldeído 2% em PBS e corados com kit Panótico Rápido. Para a microscopia eletrônica, parasitos foram fixados em solução de glutaraldeído 2.5% em PBS, lavados em solução de tetróxido de ósmio e ferrocianeto de potássio, desidratados em soluções de acetona e embebidos em resina. Cortes ultrafinos foram corados com acetato de uranila e chumbo. BnSP-7 apresentou atividade leishmanicida, causando inibição da proliferação celular e das desidrogenases mitocondriais do parasito, como determinado pelo teste MTT. Em 72h de tratamento, BnSP-7 inibiu aproximadamente 60-70% da proliferação do parasito nas concentrações de 200-50µg/mL da toxina, sendo que a inibição ocorreu de forma dose-dependente. Estudos ultraestruturais revelaram inchaço mitocondrial, alteração nuclear, vacuolização, presença de acidocalcisomas, aspecto multiflagelar e efeito de *blebbing* na membrana plasmática. Análises preliminares por SDS-PAGE mostraram que a toxina parece alterar o perfil proteico do parasito. Tais dados sugerem que BnSP-7 ou peptídeos derivados desta toxina poderiam ser usados como moldes para o desenho de novas drogas que contribuam para a terapêutica da leishmaniose.

Palavras-chave: *Bothropoides neuwiedi*, fosfolipase A<sub>2</sub> básica, *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

**ESTUDO DA SUSCETIBILIDADE DE AMASTIGOTAS EXTRACELULARES DAS CEPAS G E CL DE *Trypanosoma cruzi* A COMPONENTES DO SISTEMA IMUNE INATO E ADAPTATIVO**

Adele A. Rodrigues<sup>1</sup>, Ana Flávia O. Notário<sup>1</sup>, Jasson S. S. Saosa<sup>2</sup>, Flávia A. Martins<sup>1</sup>, Grace Kelly da Silva<sup>3</sup>, João S. Silva<sup>3</sup>, Eloisa A. V. Ferro<sup>1</sup> e Claudio V. Silva<sup>1</sup>

1. Universidade Federal de Uberlândia.

2. Universidad Autónoma de Bucaramanga.

3. Universidade de São Paulo.

e-mail: adeleaudr@gmail.com; silva\_cv@yahoo.com.br

*Trypanosoma cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas. Devido à ampla diversidade genética existente em *T. cruzi*, a espécie foi dividida em seis discretas unidades de tipagem (DTU), denominadas *T. cruzi* I a VI. A cepa G pertence ao grupo *T. cruzi* I e a CL a *T. cruzi* VI. Formas amastigotas extracelulares (AE) são consideradas importantes na manutenção do ciclo no hospedeiro vertebrado. Estudos quanto à diferença de infectividade e caracterização da suscetibilidade imunológica de parasitos pertencentes aos diferentes grupos mostram-se relevantes para que terapias baseadas na resposta imunológica sejam eficientes para todos os grupos filogeneticamente distintos. O objetivo deste trabalho foi comparar a infecção *in vitro* e *in vivo* por amastigotas extracelulares das cepas G e CL. Para isto, foram realizadas experimentações *in vitro* e *in vivo*. Nos experimentos *in vitro* foi observado maior infectividade e multiplicação de AE da cepa G do que de CL. Contudo, AE da cepa G mostraram-se mais suscetíveis, tanto a atuação de macrófagos inflamatórios, em experimentos *ex vivo*, quanto daqueles diferenciados e estimulados com IFN- $\gamma$  *in vitro*. Dentre os camundongos C57/BL6 e *Calomys callosus* infectados com a cepa G, somente *C. callosus* apresentou parasitemia sub-patente e os nocautes para IL-12 e IFN- $\gamma$  apresentaram parasitemia patente e alta mortalidade. Todos os animais, tanto os C57/BL selvagens e nocautes, quanto *C. callosus*, infectados com a cepa CL apresentaram parasitemia, contudo os nocautes para TNF- $\alpha$ , iNOS, Myd-88 e IL-12 apresentaram maior parasitemia e mortalidade em relação aos selvagens. Em experimentos onde camundongos foram imunossuprimidos foi observada elevada parasitemia para a cepa CL e para a G. Conclui-se, portanto, que AE da cepa G provavelmente não apresentam parasitemia *in vivo* devido a sua maior suscetibilidade a atuação de macrófagos ativados com IFN- $\gamma$ . Apoio: FAPEMIG, UFU.

Palavras-chave: amastigotas extracelulares, IFN- $\gamma$ , *Trypanosoma cruzi*.





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

## TGF- $\beta$ 1 E IFN- $\gamma$ REGULAM POSITIVAMENTE A EXPRESSÃO DE ICAM-1 E A ADESÃO DE *Toxoplasma gondii* EM CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS HUMANAS (LINHAGEM BEWO)

Bellisa de F. Barbosa<sup>1</sup>, Janice B. L. Maria<sup>1</sup>, Angelica O. Gomes<sup>1</sup>, Mariana B. Angeloni<sup>1</sup>, Marise L. Fermino<sup>2</sup>, Maria C. Roque-Barreira<sup>2</sup>, Neide M. Silva<sup>3</sup>, Deise A. O. Silva<sup>4</sup>, José R. Mineo<sup>4</sup>, Eloisa A. V. Ferro<sup>1</sup>

1. Laboratório de Imunofisiologia da Reprodução, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos, Universidade de São Paulo.

3. Laboratório de Imunopatologia, Universidade Federal de Uberlândia.

4. Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: bellisafb@yahoo.com.br

*Toxoplasma gondii* é um parasito intracelular obrigatório capaz de infectar uma variedade de células do hospedeiro, incluindo o trofoblasto humano, favorecendo a infecção de tecidos placentários. Estudos prévios demonstraram o envolvimento das citocinas IL-10, TGF- $\beta$ 1 e IFN- $\gamma$  na maior susceptibilidade de células trofoblásticas humanas (linhagem BeWo) à infecção por *T. gondii*. Adicionalmente, outros estudos verificaram que *T. gondii* adere-se à membrana plasmática das células hospedeiras por intermédio da molécula de adesão intercelular tipo 1 (ICAM-1). Assim, o presente trabalho se propôs a verificar o papel de *T. gondii*, IL-10, TGF- $\beta$ 1 e IFN- $\gamma$  na expressão de ICAM-1 em células trofoblásticas BeWo, bem como analisar o papel de ICAM-1 na adesão de *T. gondii* a estas células sob influência dessas citocinas. Células epiteliais uterinas humanas (linhagem HeLa) foram utilizadas como padrão de controle dos experimentos. Células BeWo e HeLa foram infectadas ou não pela cepa RH de *T. gondii* e tratadas ou não com as formas recombinantes das citocinas IL-10, TGF- $\beta$ 1 e IFN- $\gamma$ . As células foram analisadas quanto ao índice de infecção (% de células infectadas por 200 células examinadas) e expressão de ICAM-1 por imuno-histoquímica, Western blotting e PCR em tempo real. Os sobrenadantes foram submetidos a ELISA para dosagem de TNF- $\alpha$ . Posteriormente, ambas as células foram tratadas nas condições que regularam alta expressão de ICAM-1 e a adesão de *T. gondii* à membrana plasmática das células foi quantificada na presença e ausência de bloqueio para ICAM-1 por anticorpo específico neutralizante. No que se refere a células BeWo, TGF- $\beta$ 1 e IFN- $\gamma$  aumentaram significativamente o índice de infecção, a expressão de ICAM-1, a produção de TNF- $\alpha$ , o número de células ICAM-1<sup>+</sup> com parasitos aderidos à membrana e o total de parasitos aderidos à membrana dentro de células ICAM-1<sup>+</sup>. Por outro lado, TGF- $\beta$ 1 e IFN- $\gamma$  reduziram a expressão de ICAM-1, a produção de TNF- $\alpha$  e controlaram o índice de infecção em células HeLa. Esses resultados permitiram concluir que TGF- $\beta$ 1 e IFN- $\gamma$  são importantes citocinas na regulação da expressão de ICAM-1 em células trofoblásticas BeWo, promovendo maior adesão de *T. gondii* a estas células e, conseqüentemente, favorecendo a infecção. Portanto, o presente trabalho contribuiu para entender as estratégias usadas por *T. gondii* para aderir e invadir em células trofoblásticas humanas, esclarecendo os mecanismos da transmissão vertical da toxoplasmose. Apoio: CNPq, FAPEMIG, CAPES.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, ICAM-1, trofoblasto.



**INFLUÊNCIA DAS CEPAS RH E ME49 DE *Toxoplasma gondii* NA INDUÇÃO DE APOPTOSE EM CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS (LINHAGEM BEWO) SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM CITOCINAS PRÓ E ANTI-INFLAMATÓRIAS**

Mariana B. Angeloni<sup>1</sup>, Andressa S. Castro<sup>1</sup>, Neide M. Silva<sup>1</sup>, Angelica O. Gomes<sup>1</sup>, Deise A. O. Silva<sup>1</sup>, José R. Mineo<sup>2</sup>, Eloisa A. V. Ferro<sup>1</sup>

1. Laboratório de Histologia e Embriologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Imunoparasitologia. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: ma\_bodini@yahoo.com.br

A transmissão transplacentária causa uma das formas mais graves de infecção pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. A habilidade do parasito de sobreviver no interior da célula hospedeira depende da capacidade do mesmo em manipular diversas vias intracelulares, entre elas a apoptose. *T. gondii* é capaz de bloquear a apoptose da célula hospedeira através da interação com vias de sinalização anti-apoptótica da célula. Entretanto, a desregulação na incidência de apoptose, durante a gestação, está associada com alterações na morfologia e nos processos fisiológicos da placenta. O objetivo desse trabalho foi analisar o índice de apoptose em células trofoblásticas (linhagem BeWo) infectadas com a cepa de alta virulência RH e de baixa virulência ME49, de *T. gondii*. Além de analisar a interferência de citocinas pró e anti-inflamatórias na ocorrência da apoptose nessas células. Dessa forma, células BeWo infectadas com as cepas RH ou ME49 foram tratadas com citocinas pró e anti-inflamatórias e analisadas quanto ao índice de apoptose. Além disso, os sobrenadantes da cultura de células, após a infecção com as cepas, foram analisados por ELISA para determinar a produção de citocinas. Células BeWo infectadas com a cepa RH apresentaram índice de apoptose menor do que o observado nos controles, enquanto que, células infectadas com a cepa ME49 apresentaram índices maiores do que o observado nos controles e em células infectadas com a cepa RH, nos três tempos de infecção analisados (2, 8 e 24 horas). Células infectadas com a cepa RH são capazes de bloquear a apoptose mesmo após o tratamento com citocinas pró-inflamatórias como IFN- $\gamma$  e IL-12, mas não quando tratadas com TNF- $\alpha$ . O tratamento com citocinas anti-inflamatórias como TGF- $\beta$  e IL-10 promoveram diminuição no índice de apoptose de células infectadas com a cepa ME49. O tratamento com MIF diminuiu o índice de apoptose das células infectadas com as duas cepas. A análise da produção de citocinas de células não submetidas aos tratamentos demonstrou que a capacidade das cepas de *T. gondii* inibirem ou induzirem a apoptose pode estar associado ao perfil de citocinas secretadas. Esses resultados indicam que as cepas RH e ME49 apresentam mecanismos opostos na interferência do processo de apoptose em células trofoblásticas (BeWo). Essas diferenças podem estar associadas com o perfil de citocinas secretadas e podem atuar como estratégias de evasão que o parasito utiliza para sobreviver no interior das células hospedeiras. Apoio: UFU, ICBIM, CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: trofoblasto, *T. gondii* e apoptose.

## EFEITO DE AZITROMICINA E ESPIRAMICINA NA INVASÃO, REPLICAÇÃO E PRODUÇÃO DE CITOCINAS EM CÉLULAS BEWO INFECTADAS COM *Toxoplasma gondii*

Priscila S. Franco<sup>1</sup>, Angelica O. Gomes<sup>1</sup>, Bellisa F. Barbosa<sup>1</sup>, Mariana B. Angeloni<sup>1</sup>, Neide M. Silva<sup>2</sup>, Andréa T. Carvalho<sup>3</sup>, Olindo A. Martins-Filho<sup>3</sup>, Deise A. O. Silva<sup>4</sup>, José R. Mineo<sup>4</sup>, Eloisa A. V. Ferro<sup>1</sup>

1. Laboratório de Imunofisiologia da Reprodução. Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Imunopatologia. Universidade Federal de Uberlândia.

3. Laboratório de Doença de Chagas, Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Universidade Federal de Minas Gerais.

4. Laboratório de Imunoparasitologia. Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: pribio85@hotmail.com

*Toxoplasma gondii* é um parasito intracelular obrigatório capaz de infectar uma variedade de hospedeiros, causando infecções graves em indivíduos imunocomprometidos e em mulheres gestantes. Os antibióticos macrolídeos, azitromicina e espiramicina, têm efeitos no controle da toxoplasmose, além de possuírem propriedades anti-inflamatórias influenciando na resposta imune, principalmente em infecções parasitárias. As células trofoblásticas da linhagem BeWo são utilizadas como modelo experimental na infecção por *T. gondii*. Nesse sentido, esse estudo teve como objetivos, determinar a influência de azitromicina e espiramicina no índice de infecção e proliferação de *T. gondii* em células BeWo, bem como avaliar a produção de citocinas em células tratadas com azitromicina ou espiramicina e/ou infectadas por *T. gondii*. Para isso, as células foram infectadas com taquizoítas da cepa RH de *T. gondii*, na proporção de 3 parasitos por célula. Em seguida, as células foram tratadas com as concentrações de 50, 100, 200 e 400 µg/mL de azitromicina ou espiramicina. Como controle, os mesmos procedimentos foram realizados, porém na ausência dos tratamentos. As lamínulas contendo as células foram lavadas em PBS, fixadas em formol 10% e coradas com azul de toluidina. As lamínulas foram analisadas sob microscópio de luz e as células foram quantificadas quanto à porcentagem de células infectadas a cada 200 células examinadas (índice de infecção) e quanto ao número total de parasitos intracelulares a cada 200 células infectadas examinadas (replicação intracelular do parasito). Além disso, sobrenadantes foram coletados e a produção de citocinas foi mensurada pelo teste ELISA, para o fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) e por citometria de fluxo para as citocinas do perfil Th1/Th2. O tratamento com as drogas diminuiu o parasitismo, bem como a replicação intracelular de *T. gondii* nas células BeWo. A infecção por *T. gondii* promoveu aumento na produção do fator de inibição da migração de macrófagos (MIF) e essa produção foi maior em células infectadas e tratadas com azitromicina. Células BeWo infectadas e tratadas com as drogas apresentaram maior produção de citocinas anti-inflamatórias IL-10 e IL-4. Em conclusão, o presente estudo demonstrou que o tratamento de células BeWo com azitromicina ou espiramicina foi capaz de controlar a infecção e replicação de *T. gondii*. Além disso, o tratamento com essas drogas induziu uma resposta anti-inflamatória e alta produção de MIF, que são importantes fatores para o estabelecimento e manutenção da gestação. Apoio: FAPEMIG, CNPq.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, macrolídeos, células BeWo.

### CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ANTICORPOS POLICLONAIS IgY ANTI-*Toxoplasma gondii*

Álvaro Ferreira Júnior, Fernanda M. Santiago, Hercílio H. Filho, Murilo V. Silva, Matheus S. Faria, Deise A. O. Silva, Jair P. Cunha Junior, José R. Mineo, Tiago W. P. Mineo

Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: alvaroferreirajr@gmail.com

*Toxoplasma gondii* é um parasita intracelular, cosmopolita e que infecta diversas espécies animais, incluindo o homem. Sequelas neurológicas, oculares e abortos são associados à toxoplasmose. Vários estudos avaliam a relação parasito-hospedeiro, e em muitos destes experimentos são utilizados anticorpos específicos obtidos de camundongos ou coelhos. A obtenção destas imunoglobulinas implica na sangria do animal, além disso, são recuperadas quantidades pequenas de um único animal. Anticorpos policlonais IgY, purificados da gema do ovo de galinhas imunizadas, são utilizados em estudos com rotavírus, *Staphylococcus aureus*, *Plasmodium falciparum*, *Eimeria acervulina* e tumores. As galinhas transferem seus anticorpos séricos para a gema do ovo (aproximadamente 15 mL de gema/ovo), com isso se dispensa sangria do animal. Os protocolos de purificação são simples, de baixo custo e com elevada taxa de recuperação dos anticorpos (aproximadamente 4 mg/mL de gema). Objetivo: Avaliar anticorpos IgY policlonais anti-*T. gondii* como ferramentas em protocolos relacionados a *T. gondii*. Material e métodos: Galinhas foram imunizadas com antígeno solúvel de taquizoítos (STAg). A purificação das IgY a partir da gema dos ovos seguiu protocolos já estabelecidos. A cinética de produção, maturação de afinidade e perfil de reconhecimento de antígenos de *T. gondii* foram avaliados por meio de ELISA e *Western blotting*. Para a avaliação funcional das IgY foram padronizados ensaios de imunohistoquímica, inibição de invasão *in vitro* e *immunoblotting* bidimensional. Resultados: Foram recuperados, em média, 4 mg de IgY policlonal/mL de gema, apresentando maturação precoce de avidéz (1° booster), pico de produção no 42° dia após a imunização primária e com reconhecimento de proteínas com diferentes pesos moleculares, sendo p30 a primeira ser detectada (21° dia). No ensaio de imunohistoquímica utilizando cortes de cérebro de camundongos infectados, cistos teciduais *T. gondii* foram nitidamente detectados por IgY. Interessantemente, a incubação prévia de taquizoítos com IgY anti-STAg inibiu, parcialmente e de forma dose-dependente, a invasão de células HeLa. Anticorpos IgY específicos reconhecem proteínas antigênicas dentro de ampla faixa de ponto isoelétrico e peso molecular, sendo promissora para estudos de proteômica. Conclusão: os resultados obtidos são encorajadores pois demonstram que os anticorpos IgY policlonais anti-STAg são ferramentas complementares interessantes para estudos de proteômica de *T. gondii* e da relação parasito-hospedeiro. Apoio: UFU, ICBIM, CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, IgY, anticorpos.

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS PARA *Toxoplasma gondii* EM DUAS ESPÉCIES DE JACARÉS DA FAUNA BRASILEIRA (*Melanosuchus niger* E *Caiman crocodilus*) POR MEIO DE ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS (ELISA)**

Flávia B. Ferreira<sup>1</sup>, Álvaro Ferreira Júnior<sup>1</sup>, Fernanda M. Santiago<sup>1</sup>, Arlindo G. Macêdo-Júnior<sup>1</sup>, Pollyanna C. A. Vieira<sup>1</sup>, Murilo V. Silva<sup>1</sup>, Deise A. O. Silva<sup>1</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>, André L. Q. Santos<sup>2</sup>, Tiago W. P. Mineo<sup>1</sup>

1. Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Pesquisa em Animais Silvestres, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: flaviabatistaf@yahoo.com.br

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular do filo Apicomplexa causador da Toxoplasmose. Esta doença acomete grande variedade de hospedeiros sendo uma infecção de distribuição mundial. *T. gondii* possui como hospedeiro definitivo os felídeos, principalmente o gato doméstico (*Felis catus*), e vários outros animais como hospedeiros intermediários. Na medicina de animais selvagens os exames sorológicos podem ser considerados como bioindicadores da qualidade ambiental, uma vez que a saúde do meio ambiente influencia na biologia e ecologia dos organismos que vivem nele. Com isso este trabalho tem por objetivo a realização de ensaios utilizando conjugados heterólogos para a detecção de anticorpos específicos para *T. gondii* em amostras de soros de duas espécies de jacarés da fauna brasileira, o jacaré Açu (*Melanosuchus niger*) e o *Caiman crocodilus*, conhecida popularmente por jacaré Tinga. Foram obtidas 104 amostras de soros de jacarés coletadas em varias regiões do país a partir do Laboratório de Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS). Para a detecção de anticorpos IgY realizou-se o teste ELISA indireto. Para a execução do ensaio sorológico foram necessários a realização de uma série de diluições das amostras e conjugado para gerar um protocolo direcionado a sorologia em répteis. A diluição dos soros e conjugado foram escolhidas após análise comparando-se as densidades ópticas (Dos) para uma melhor visualização do ensaio. Por não haver conjugados específicos para a detecção de anticorpos nestes animais foi utilizado anticorpos anti-IgY de galinha (*Gallus gallus domesticus*) conjugado a peroxidase visto a homologia entre a IgY destes dois animais. Os títulos das amostras foi estabelecido na diluição de 1:20 e o conjugado foi de 1:2000. Do total de amostras analisadas, 49 (47,11%) foram supostamente soropositivas para *T. gondii*. Estas amostras foram consideradas positivas por meio da determinação do índice ELISA (IE). Sendo considerados positivos IE>1,2 e excluindo-se a reatividade positiva para valores próximos de EI=1,0. Para melhores resultados será necessário a elaboração de reagentes específicos para a detecção de anticorpos contra *T. gondii* nestes animais. Apesar de ter encontrado animais soropositivos, estudos ainda devem ser realizados para a confirmação de infecção de répteis com *T. gondii* visto a ausência na literatura de relatos de infecção de animais desse grupo. Apoio: FAPEMIG, UFU, ICBIM.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, jacarés, sorologia.

**SELEÇÃO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA PROTEÍNAS DE *Toxoplasma gondii* VISANDO NOVOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO, PROTOCOLOS VACINAIS E NOVAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS**

Luciana M. Bastos, Fernanda M. Santiago, Arlindo G. Macêdo Júnior, Tiago W. P. Mineo, José Roberto Mineo

Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: jrmineo@gmail.com

A toxoplasmose é uma doença infecciosa, congênita ou adquirida, causada por um protozoário do filo Apicomplexa, subclasse coccídeo, denominado *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). A infecção é principalmente adquirida pela ingestão de alimentos e água contaminados com oocistos eliminados nas fezes dos gatos ou pela ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais ou verticalmente por transmissão placentária de taquizoítos. A caracterização imunológica de anticorpos monoclonais contra proteínas de *T. gondii* pode ser valiosa para descoberta de epítopos que induzem a resposta imune durante a infecção podendo levar ao desenvolvimento de novos imunoenaios que determinem os perfis sorológicos na toxoplasmose. O objetivo do presente trabalho foi selecionar anticorpos monoclonais dirigidos contra componentes de superfície e citosólicos de *Toxoplasma gondii* de importância na interação com as células hospedeiras e na indução da resposta imune inata e adaptativa, com a finalidade de identificar novas proteínas parasitárias, com o enfoque no desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico, protocolos vacinais e novas estratégias terapêuticas. A produção de um anticorpo monoclonal consiste de quatro passos: imunização do animal, geralmente camundongos, obtenção de células B do baço de animais imunizados, fusão das células esplênicas com células de mieloma para obtenção do hibridoma e seleção da célula que produz o anticorpo monoclonal desejado. Foi selecionada célula produtora de anticorpo denominada C<sub>3</sub>C<sub>5</sub>, a qual produz o anticorpo monoclonal contra proteína de *T. gondii* de peso aproximado de 45 kDa, conforme observações por técnica de Western Blotting. O anticorpo monoclonal produzido por essa célula foi purificado em coluna de Proteína G-Sepharose e teve a purificação confirmada por eletroforese em gel de poliacrilamida. Ensaio de invasão e proliferação com o parasita *T. gondii* marcado com β-galactosidase (*T. gondii* 2F1) foram realizados, nos quais os parasitos foram tratados com diferentes concentrações do anticorpo purificado. Foi observado que as concentrações de mAb C<sub>3</sub>C<sub>5</sub> 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL e 12,50 µg/mL inibem a proliferação de *T. gondii* comparadas ao tratamento com IgG irrelevante nas mesmas concentrações. Reação de imunofluorescência indireta foi realizada para imunolocalização da proteína marcada por anticorpo monoclonal C<sub>3</sub>C<sub>5</sub> frente a formas taquizoítas da cepa RH de *T. gondii*. Foi possível supor que o anticorpo monoclonal C<sub>3</sub>C<sub>5</sub> atua contra uma proteína provavelmente de superfície de *T. gondii*, tendo visto que a marcação por imunofluorescência concentrou-se na membrana do taquizoíta de *T. gondii* tanto na condição de permeabilização da membrana com Triton-X quanto na ausência de permeabilização. Apoio: UFU, ICBIM, FAPEMIG, FAU.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, anticorpo monoclonal, hibridoma.

### CASO IMPORTADO DE MALÁRIA POR *Plasmodium ovale* EM UBERLÂNDIA-MG

Jean E. Limongi<sup>1,2</sup>, Iris S. Lopes<sup>1</sup>, Alcides A. Silva<sup>1</sup>, Daniela C. Costa<sup>3</sup>, Luzia H. Carvalho<sup>3</sup>, Marcelo S. Ferreira<sup>2</sup>

1. Centro de Controle de Zoonoses de Uberlândia, Uberlândia, MG.

2. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

3. Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte-MG.

e-mail: jeanlimongi@gmail.com

Cinco plasmódios causam malária humana. *Plasmodium vivax* e *P. falciparum* são os mais prevalentes e também mais associados à morbi-mortalidade dos casos. *P. malariae* e *P. ovale* são relativamente raros. O quinto parasito *P. knowlesi*, recentemente descrito, é responsável por um grande número de hospitalizações por malária na Ásia. O *P. ovale* é um parasito endêmico do continente africano. Esporadicamente casos importados ocorrem em outras áreas. A baixa prevalência, associada à dificuldade de distingui-lo de *P. vivax*, leva a negligência deste tipo de malária, que frequentemente não é diagnosticada. O grande fluxo de trabalhadores brasileiros para o continente africano nos últimos anos tem aumentado o número de casos importados de *P. ovale* no Brasil. A confirmação desses casos por métodos moleculares ainda não foi realizada no Brasil. O objetivo do trabalho foi diagnosticar laboratorialmente um caso de malária importada por *P. ovale* de forma morfológica e molecular. Foi realizada a investigação de um caso de malária de um homem de 36 de anos, com histórico de viagem para Angola há dois anos. Foram realizados os exames de gota espessa, Nested-PCR e PCR em tempo real. No exame de gota espessa foram observadas formas características de *P. ovale* com parasitemia equivalente a 425 parasitas por mm<sup>3</sup> de sangue. Este resultado foi confirmado pelas técnicas moleculares de Nested-PCR e PCR em tempo real. A baixa parasitemia observada é característica das infecções por *P. ovale*, que infectam preferencialmente reticulócitos. A doença por *P. ovale* deve ser incluída no diagnóstico diferencial de pacientes oriundos do continente africano. Devido à ocorrência frequente de casos de *P. ovale* com longo período de incubação, a investigação do histórico de viagens do paciente deve ser minuciosa. O PCR utilizado como ferramenta diagnóstica auxilia sobremaneira na confirmação de casos de infecções relativamente raras, como as infecções por *P. ovale*.

Palavras-chave: *Plasmodium ovale*, caso importado, PCR.



**IMPORTÂNCIA DO AMBIENTE, COLONIZAÇÃO NASAL E DAS MÃOS DE PROFISSIONAIS DE SAÚDE NA  
EPIDEMIOLOGIA DE PNEUMONIAS ASSOCIADAS À VENTILAÇÃO MECÂNICA (PAVs) POR *Staphylococcus  
aureus* EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO**

Lilian A. Rocha, Michel R. Moreira, Paulo P. Gontijo Filho

Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: lilianrocha23@yahoo.com.br

O *Staphylococcus aureus* é um dos patógenos hospitalares mais importantes e a colonização da mucosa nasal com este microrganismo frequentemente precede o desenvolvimento de infecções. As mãos dos profissionais de saúde representam a principal via de transmissão no ambiente hospitalar, o qual representa reservatório secundário para o *S. aureus*. Objetivos: Analisar a epidemiologia de PAVs por *S. aureus* sensível (OSSA) ou resistente (ORSA) à oxacilina em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva de Adultos (UTI) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Material e métodos: Foi realizado um estudo de coorte prospectivo na UTI de adultos do HC-UFU, entre setembro de 2008 a agosto de 2010. Os pacientes foram investigados quanto à colonização nasal com uso de swab de vigilância no momento da admissão e a cada dois dias até confirmação da colonização. As PAVs foram definidas com base em critérios clínico, radiológico e contagem microbiológica  $\geq 10^6$  UFC/ml no aspirado traqueal. Foi realizada coleta na mão dominante dos profissionais de saúde através da pressão de dedos e palma em placa contendo agar manitol salgado. Foi realizada coleta em superfícies ambientais passíveis de contaminação das mãos dos profissionais de saúde, bem como do ar, com uso de swab e exposição de placas, respectivamente. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística uni e multivariada. Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFU. Resultados: A frequência de colonização nasal pelo *S. aureus* foi de 22,5%, com predomínio de amostras sensíveis à oxacilina (70,8%). O risco de PAV foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) nos pacientes ventilados colonizados pelo *S. aureus* tanto naqueles por ORSA quanto por OSSA. Houve correlação entre o número de pacientes com PAV e aqueles colonizados ( $r=0,576$ ;  $P=0,003$ ). Os pacientes com ORSA diferiram significativamente daqueles com OSSA para os seguintes fatores de risco: diagnóstico de admissão clínico ( $P=0,007$ ), tempo de colonização  $\geq 7$  dias ( $P=0,001$ ), uso de traqueostomia ( $P=0,005$ ) e de carbapenêmicos ( $P=0,01$ ), permanecendo independentemente associado quando da análise multivariada o uso de traqueostomia ( $P=0,01$ ). Cerca de 8% dos profissionais analisados tinham nas mãos a presença do *S. aureus*. O patógeno foi encontrado em 10,7% das superfícies coletadas e igual frequência foi detectada para o ar. Conclusão: A colonização nasal do paciente por *S. aureus*, ORSA e OSSA representou um fator de risco na evolução para PAV por estes microrganismos. O único fator de risco associado independentemente com a colonização por ORSA foi o uso de traqueostomia.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, pneumonia associada à ventilação, epidemiologia.

**FATORES DE RISCO QUE INFLUENCIAM A SOBREVIVÊNCIA DE PACIENTES COM INFECÇÕES POR *Acinetobacter baumannii* MULTIRESSISTENTES**

Mariana L. P. Rocha, Paulo P. Gontijo Filho, Geraldo B. Melo

Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

A incidência de amostras de *Acinetobacter baumannii* multiresistentes está aumentando e as opções terapêuticas tornam-se escassas para esses microrganismos. Entretanto existem controvérsias a respeito da mortalidade atribuída aos microrganismos multiresistentes. Objetivou-se avaliar os fatores de risco relacionados com infecções por *A. baumannii* multiresistentes, bem como identificar o prognóstico dessas infecções. Um estudo prospectivo observacional foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia de setembro de 2009 a junho de 2010. Foram incluídos no trabalho todos os pacientes que tiveram infecção por *A. baumannii*. *Acinetobacter baumannii* multiresistente foi definido pela resistência a três ou mais classes diferentes de antimicrobianos. Os dados clínicos e demográficos foram coletados retrospectivamente nos prontuários. Foram identificados 40 pacientes com infecções por *A. baumannii*, sendo 16 com amostras multiresistentes. 28 pacientes do sexo masculino, 14 apresentaram infecção por *A. baumannii* multiresistente. As seguintes co-morbidades: diabetes mellitus, cardiopatia, nefropatia, neoplasia, HIV e DPOC não foram significativamente consideradas fatores de risco para infecção. Em relação aos procedimentos invasivos: CVC, dreno, VM, nutrição parenteral, traqueostomia e colostomia também não foram significantes para infecção pelo microrganismo multiresistente. Em relação ao fator prognóstico para mortalidade, doença renal foi considerado significativo. Concluiu-se que as infecções por *A. baumannii* MDR não foram associadas com os fatores de risco avaliados, porém pacientes com doença renal apresentaram fator de risco para mortalidade hospitalar neste estudo.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*, multiresistência, fatores de risco.



## DETECÇÃO DOS SOROTIPOS 1 E 2 DO VÍRUS DA DENGUE EM UBERLÂNDIA, MG, NO ANO DE 2011

Guilherme R. O. Freitas, Heber L. S. Barros, Juliana H. Chávez, Divina A. O. Queiróz, Jonny Yokosawa

Laboratório de Virologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, MG.

e-mail: guibio\_ufu@yahoo.com.br

Desde a detecção do vírus da dengue sorotipo 4 (DENV-4) no estado de Roraima em julho de 2010, os Sistemas de Vigilância Epidemiológica intensificaram seus esforços na identificação dos sorotipos circulantes da dengue nas diversas regiões do país. Atualmente, no Brasil são detectados os quatro sorotipos virais (DENV-1 a -4), situação apontada como um importante fator de risco para ocorrência das formas graves da doença e que pode estar relacionada com o aumento de sua transmissão. O presente estudo tem como objetivo identificar os sorotipos dos vírus da dengue circulantes em Uberlândia, MG. Em fevereiro e março de 2011 foram coletadas amostras sanguíneas de 10 pacientes atendidos na Unidade de Atendimento Integrado Dr. Domingos P. Ulho, com suspeita de dengue e que se apresentaram até o quarto dia de início dos sintomas. As amostras foram inoculadas em cultura de células C6/36 (*Aedes albopictus*) e submetidas à técnica de *multiplex* RT-PCR para a detecção e identificação do sorotipo viral. Todos os casos foram considerados de dengue clássico. Dentre as amostras testadas, três foram positivas pela *multiplex* RT-PCR, sendo duas identificadas como o sorotipo DENV-1 e uma DENV-2. Porém, o diagnóstico sorológico, realizado através de MAC-ELISA, com amostras coletadas entre o sexto e o décimo dia do aparecimento dos sintomas, mostrou resultado positivo para um desses casos, negativo para outro e não foi realizada a coleta do terceiro. Das duas amostras testadas por ambos os métodos, houve concordância dos resultados em apenas uma delas. Porém, como o número de amostras analisadas foi pequeno, não foi possível realizar cálculos estatísticos e assim determinar a significância desses resultados. Apesar disso, os resultados indicam a circulação de pelo menos dois sorotipos virais da dengue em Uberlândia nos meses de fevereiro e março de 2011. Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde do Brasil, desde 2009, DENV-1 tem sido o sorotipo mais frequentemente detectado na maioria das regiões, seguido por DENV-2. Para resultados mais significativos, pretende-se continuar a coleta de amostras sanguíneas para a detecção e identificação do sorotipo viral e, futuramente realizar o sequenciamento genético. Através deste trabalho, poder-se-ão estabelecer os sorotipos do vírus da dengue em circulação na região, a origem desses vírus e o possível envolvimento de determinado sorotipo com a ocorrência de formas graves da doença. Apoio: CNPq.

Palavras chaves: vírus da dengue, sorotipos, *multiplex* RT-PCR.

## ESPÉCIES DE *Candida* ISOLADAS A PARTIR DE HEMOCULTURA EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO TRIÂNGULO MINEIRO

Ralciane P. Menezes<sup>1</sup>, Lorraine C. R. Silva<sup>2</sup>, Lucivânia D. S. Malvino<sup>3</sup>, Tomaz A. Moreira<sup>3</sup>, Walquíria M. Sá<sup>3</sup>, Denise V. D. Brito<sup>1</sup>, Paulo P. Gontijo Filho<sup>1</sup>, Deisy V. Resende<sup>2</sup>, Mário P. A. Penatti<sup>2</sup>, Reginaldo S. Pedroso<sup>2</sup>

1. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Escola Técnica de Saúde, Universidade Federal de Uberlândia.

3. Laboratório de Análises Clínicas do HCU-UFU, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: rpedroso@estes.ufu.br

Algumas espécies de leveduras do gênero *Candida* são comensais humanos, porém podem desencadear quadros de infecção quando alguns fatores de risco estão presentes, como o uso prolongado de antibióticos de amplo espectro e imunossupressão. No passado, a espécie mais frequente em isolamentos clínicos era de *C. albicans*, mas nas últimas décadas esse quadro se inverteu, fazendo com que espécies não-*albicans* predominem na maioria dos hospitais, tanto no Brasil quanto em outros países. Objetivo. Verificar a frequência de espécies de *Candida* isoladas a partir de amostras de sangue de pacientes internados em um hospital universitário. Todas as amostras de hemocultura positivas para fungos leveduriformes, no período de julho a dezembro de 2010, foram processadas no Setor de Micologia do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. A pesquisa obteve parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia. A identificação dos isolados foi realizada pela metodologia clássica, utilização de ágar cromogênico e assimilação de fontes de carbono e nitrogênio. Vinte e oito hemoculturas foram positivas para *Candida* sp., distribuídas da seguinte forma: 9 (32,1%) de *C. albicans*, 8 (28,6%) de *C. tropicalis*, 6 (21,4%) de *C. parapsilosis*, 3 (10,7%) de *C. glabrata* e 2 (7,2%) de *C. krusei*. Conclusão. Concluímos que no período do estudo, predominou o isolamento de espécies de *Candida* não-*albicans* (67,9%) em amostras de sangue, reforçando a importância da identificação das espécies dos isolados, especialmente para a escolha de uma alternativa terapêutica. Apoio: CNPq, Diren/Prograd/UFU.

Palavras-chave: microbiologia, micologia laboratorial, *Candida* sp.

## EFEITO DA INDUÇÃO DA INFLAMAÇÃO POR CARRAGENINA NO RECRUTAMENTO PERITONEAL E PRODUÇÃO MEDULAR DE LEUCÓCITOS

Renata A. Cunha<sup>1</sup>, Gabriel A. S. Silva<sup>1</sup>, Natany G. Reis<sup>1</sup>, Jhony R. Oliveira<sup>1</sup>, Francielle F. Oliveira<sup>1</sup>, Marcelo H. Napimoga<sup>1,2</sup>, Maria T. C. Laguna-Abreu<sup>1</sup>

1. Laboratório de Biopatologia e Biologia Molecular, Universidade de Uberaba.

2. Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Instituto e Centro de Pesquisas São Leopoldo Mandic.

e-mail: maria.laguna@uniube.br

A inflamação, ou seja, a resposta do organismo a um patógeno, ativa mediadores que levam a quimiotaxia de neutrófilos ao local. A carragenina é um potente indutor de inflamação. Quando administrada intraperitonealmente induz, resposta inflamatória neste local. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a resposta inflamatória causada por carragenina no recrutamento peritoneal e na produção medular de leucócitos. Para isso, ratos Wistar machos pesando 200g, provenientes do Biotério Central da Universidade de Uberaba (UNIUBE), foram ambientalizados no Biotério do Campus Aeroporto da UNIUBE. Após uma semana, um grupo experimental foi decaptado (grupo intacto; n=5) e o outro foi induzido a inflamação por carragenina intraperitoneal (500µg/animal; n=5) e os animais foram decaptados após 4 horas. Após a decaptação foi realizada a lavagem peritoneal (PBS/EDTA) e a retirada do fêmur para a obtenção do lavado de medula óssea (solução salina). A contagem total (câmara de Neubauer) e diferencial (citospin e coloração com Panótico) de células foi realizada. Para a análise estatística foi utilizado o teste *t* e o nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . Os resultados estão expressos como a média ± erro padrão da média e representam o número de células  $\times 10^6$ /cavidade. Observou-se no lavado peritoneal contagem total (CT)  $20,25 \pm 1,7$  e  $33,65 \pm 4,0$ , antes e após indução da inflamação por carragenina, respectivamente ( $p = 0,016$ ). Na contagem diferencial foi observado resultado de células mononucleares de  $14,3 \pm 0,39$  e  $8,35 \pm 1,7$  ( $p = 0,008$ ) e de polimorfonucleares de  $10,7 \pm 0,39$  e  $16,55 \pm 1,72$  ( $p = 0,007$ ) para os grupos antes e após inflamação. Na contagem de células no lavado medular foi observado diminuição após indução de carragenina ( $p = 0,007$ ) observando os valores de  $100,9 \pm 8,9$  e  $50,45 \pm 8,6$  para o grupo intacto e com indução de inflamação, respectivamente. O modelo de inflamação por carragenina mostrou leucocitose no lavado peritoneal devido principalmente ao aumento de células polimorfonucleares. A mobilização das células da medula óssea foi observada, uma vez que houve a diminuição dessas no lavado medular. A medula óssea parece não compensar a utilização das células de defesa uma vez que estas células migram para o lavado peritoneal. Apoio: UNIUBE/PIBIC-JUNIOR.

Palavras-chave: inflamação, recrutamento peritoneal, leucócitos.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

### IMUNOLOGIA DO EXERCÍCIO E SAÚDE

Miguel J. S. Bortolini<sup>1</sup>, Ismair T. Reis<sup>2</sup>, Alcimar B. Soares<sup>3</sup>, Nilson P. Silva<sup>4</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>

1. Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia.

3. Laboratório de Enzimologia, Universidade Federal de Uberlândia.

4. Laboratório de Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: bortolinimjs@gmail.com

A Imunologia do Exercício é um ramo da Imunologia que se iniciou na década de 1980, a partir da avaliação da resposta imune de atletas de alto rendimento. Atualmente tem se destacado no campo da saúde, devido à sua importância no controle e combate de patógenos, na prevenção e terapia da depressão e de várias doenças, tais como, obesidade, diversos tipos de câncer, diabetes mellitus do tipo 2. A inatividade física gera com frequência a obesidade, estes fatores estão relacionados a um maior risco na incidência de outras doenças. Além disso, contribuem para a aceleração do envelhecimento patológico, como principal consequência a desregulação do sistema imunológico causando inflamação crônica. Tem sido descrito na literatura estudos relacionando o sistema imune ao exercício físico de forma aguda e crônica, sendo a maior parte deles objetivando determinar os seguintes parâmetros: (a) marcadores relativos à diminuição dos fatores de riscos e de doenças relacionadas à inatividade e aumento da longevidade; (b) marcadores imunológicos de inflamação; e (c) a relação imunopatofisiológica com a intervenção através de exercícios físicos regulares em prevenção e terapêutica. No que diz respeito às pesquisas com marcadores imunológicos em atletas de alto rendimento, com posterior aplicação na população em geral, tem se evidenciado as que tratam do aparecimento da “janela imunológica” pós-exercício e diminuição do volume de treinamento relacionado tanto as infecções do trato respiratório superior quanto a isquemia gastrointestinal, em vários tipos de ambientes. Nos achados sobre estes marcadores imunológicos, na resposta imune inata e na adaptativa, destacam-se a regulação da expressão de MHC-II, as alterações de proteínas do complemento, os níveis de IL-6, IL-8, IL-15, TNF- $\alpha$ , variações quantitativas de monócitos e a função de macrófagos. O exercício físico regular, além de trazer a seus praticantes inúmeros benefícios, tem sido entendido como um fator econômico positivo, ao proporcionar redução dos gastos com fármacos, consultas, internações, e até uma melhor responsividade a vacinas. Seu custo-benefício está sendo pesquisado até no tratamento do câncer durante a quimioterapia. Assim, é possível afirmar que este é um momento em que novos paradigmas serão reformulados em função de novas informações advindas da indução da resposta imune dos organismos submetidos ao exercício físico regular, as quais poderão ser aplicadas na prevenção e terapêutica de diversas doenças, promovendo estados fisiológicos harmônicos e visando uma melhoria da saúde física e mental, possibilitando assim uma melhor qualidade de vida a um menor custo e com maior efetividade.

Palavras-chave: marcadores imunológicos, qualidade de vida, exercício físico regular.



# PROJETO DE PESQUISA





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
APLICADAS



IV WORKSHOP  
20 anos PPIPA

PROJETO DE PESQUISA

**INFECÇÃO POR *Entamoeba histolytica* E *Entamoeba dispar* EM PACIENTES PORTADORES DE HIV/AIDS DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE UBERLÂNDIA (HC- UFU), MINAS GERAIS**

Marcella G. Coelho<sup>1</sup>, Iliana C. B. Milian<sup>1</sup>, Fernanda C. Oliveira<sup>1</sup>, Rhyquelle R. Neris<sup>1</sup>, Aécio S. Borges<sup>2</sup>,  
Fernanda M. Santiago<sup>3</sup>, Michelle A. R. de Freitas<sup>1</sup>

1. Laboratório de Parasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Moléstias Infecciosas, Hospital de Clínicas de Uberlândia, Universidade Federal de Uberlândia.

3. Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: marcellamgc@hotmail.com; mfreitas@icbim.ufu.br

*Entamoeba histolytica* é o agente etiológico da amebíase hepática e da colite amebiana, sendo causadora de infecções humanas em escala global, constituindo problema de saúde pública. A patogenia varia de portadores assintomáticos em que o parasito vive como comensal no intestino, a portadores sintomáticos com alterações intestinais e infecção extraintestinal. A prevalência e incidência desta parasitose é desconhecida devido *E. histolytica* ser morfológicamente indistinguível de *E. dispar* em exame microscópico, sendo este responsável pela forma clínica de colite não disentérica, considerando-se assim, o complexo *E. histolytica/E. dispar*. Estudos sobre a amebíase em pacientes imunocomprometidos, principalmente em indivíduos portadores da imunodeficiência humana (AIDS) são de suma importância, pois estes indivíduos são mais vulneráveis às infecções secundárias, com grande prevalência de infecções gastrointestinais que ocasionam em diarreia crônica de difícil tratamento, podendo levar o indivíduo a debilidade e em casos mais graves à morte. Estudos da relação *E. histolytica/E. dispar* em pacientes HIV positivos são escassos e divergentes, principalmente pela complexa sintomatologia. Uberlândia encontra-se em terceiro lugar de Minas Gerais em número de portadores da AIDS, diante destes dados verificamos a importância e necessidade do presente estudo para que indivíduos portadores do vírus HIV possam levar uma vida normal, livre desta parasitose. O objetivo deste trabalho é determinar a prevalência e investigar as manifestações clínicas e os fatores de risco associados à infecção por *E. histolytica/E. dispar* em pacientes HIV+ de Uberlândia. Serão analisadas amostras de 470 pacientes HIV+, independente do sexo e idade, que procurarem atendimento à saúde no setor de Moléstias Infecciosas ou no Ambulatório, do Hospital das Clínicas de Uberlândia (HCUFU), no período de julho de 2011 a julho de 2012. Os pacientes assinarão um termo de consentimento livre e esclarecido concordando em participar do estudo, posteriormente responderão ao questionário socioepidemiológico, e serão coletadas três amostras fecais e cinco mililitros de amostra de sangue periférico. As amostras fecais serão processadas pela técnica de Faust, e quando positivos os cistos de *Entamoeba* serão purificados, extraído o DNA e realizada diferenciação molecular entre as espécies *E. histolytica/E. dispar* pela técnica de PCR. Com as amostras sorológicas será realizado o ensaio imunoenzimático (ELISA) para a determinação dos níveis de anticorpos IgG anti-*E. histolytica*. Considerando o impacto da amebíase em indivíduos HIV+, procuramos entender a real prevalência e os aspectos epidemiológicos dessa doença na região, possibilitando a melhor qualidade de vida a estes pacientes.

Palavras-chave: amebíase, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, HIV/AIDS.

PROJETO DE PESQUISA

**ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE CITOCINAS POR CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS HUMANAS (LINHAGEM BEWO)  
INFECTADAS POR DOIS ISOLADOS DE *Toxoplasma gondii* DE UBERLÂNDIA, MG, BRASIL**

Mayara Ribeiro, Janice B. L. Maria, Priscila S. Franco, Eloisa A. V. Ferro

Laboratório de Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: mayara\_ribeiro04@yahoo.com.br

*Toxoplasma gondii* é um protozoário parasito intracelular obrigatório que provoca a toxoplasmose, doença que acomete aproximadamente um terço da população mundial. Dentre as formas graves da doença está a toxoplasmose congênita, quando há passagem transplacentária das formas taquizoítas de *T. gondii*. As células trofoblásticas da linhagem BeWo são utilizadas como modelo experimental na infecção por *T. gondii* em estudos relacionados à transmissão vertical deste parasito. *T. gondii* possui três tipos de linhagens clonais (I, II e III) que são semelhantes geneticamente e estão presentes principalmente na Europa e América do Norte. Estudos demonstram que além dessas cepas já definidas, existem uma grande variedade de cepas que não pertencem a nenhum desses genótipos na América do Sul. Essas cepas são denominadas recombinantes ou exóticas. Na cidade de Uberlândia, MG, foram obtidos dois isolados a partir do coração de aves. Esses isolados foram denominados Udi1-CH05 e Udi2-CH05. Assim, o objetivo desse trabalho é avaliar comparativamente o comportamento das células BeWo frente à infecção por esses dois isolados e o efeito das drogas azitromicina ou da associação sulfadiazina-pirimetamina-ácido folínico na produção de citocinas em células trofoblásticas infectadas. Para isso, células BeWo serão mantidas em placas de 24 poços, na concentração de  $5 \times 10^4$  células por poço em um volume final de 200  $\mu$ L, em estufa a 37 °C e 5 % CO<sub>2</sub>. Após 24 horas as células serão infectadas na proporção de 5 parasitos por célula por 3 horas e depois tratadas com azitromicina ou com a associação sulfadiazina-pirimetamina-ácido folínico. Os sobrenadantes posteriormente serão submetidos ao ensaio de citometria de fluxo para determinar as citocinas de perfil Th1 e Th2 produzidas. Além disso, a produção de MIF será determinada pela ensaio imunoenzimático ELISA e reação de imunohistoquímica para demonstrar a presença dessa citocina nas células. Espera-se com esse trabalho que o tratamento com essas drogas induzam uma resposta anti-inflamatória, proporcionando o sucesso gestacional.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, células BeWo, citocinas.

PROJETO DE PESQUISA

**EFEITO DA DEPLEÇÃO DE CÉLULAS T REGULATÓRIAS EM CAMUNDONGOS C57BL/6 NO CONTROLE DA RESPOSTA IMUNE INDUZIDA PELA INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii***

Frederico R. C. Costa<sup>1</sup>, Caroline M. Mota<sup>1</sup>, Fernanda M. Santiago<sup>1</sup>, Marcela D. Ferreira<sup>1</sup>, Deise A. O. Silva<sup>1</sup>, João S. Silva<sup>2</sup>, Tiago W. P. Mineo<sup>1</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>

1. Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Imunoparasitologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

e-mail: fredrbcc@gmail.com

O presente projeto busca investigar a participação dos fatores de virulência do parasito *Toxoplasma gondii* e os fatores de resistência dos hospedeiros infectados no curso da infecção. A toxoplasmose é uma zoonose de prevalência cosmopolita, que acomete aproximadamente um terço da população mundial e é ocasionada pelo parasito *Toxoplasma gondii*. É sabido que lesões teciduais relevantes na fase aguda e na fase crônica da doença podem ser resultantes de uma intensa resposta do sistema imune do hospedeiro. Com o advento de novas ferramentas moleculares que permitiram investigar a participação das células T regulatórias em diversos fenômenos imunobiológicos, as possibilidades para um melhor entendimento sobre a interação *T. gondii* e seus hospedeiros aumentaram expressivamente. A partir do momento em que a simples dicotomia Th1/Th2 se tornou insuficiente para explicar os processos que envolvem tanto infecções como processos autoimunes, paralelamente às novas evidências da participação de outras subpopulações celulares como células T (Th17, Treg), novas perspectivas estão sendo investigadas no sentido de levar a uma melhor compreensão tanto da imunidade adaptativa como da inata, podendo gerar novas formas de intervenção, visando o tratamento e a prevenção de conseqüências imunopatogênicas. O presente projeto irá estudar a influência do receptor de células T com função regulatória GITR (*glucocorticoid-induced tumor necrosis fator*) nos mecanismos de imuno-regulação induzidos pela infecção experimental de camundongos C57BL/6 por parasitos da cepa ME-49 de *T. gondii*. Primeiramente, foi injetada uma dose única de 500ug/ml um dia antes da infecção experimental. Trinta dias depois, os camundongos foram sacrificados. O cérebro foi coletado para a avaliação do parasitismo na fase crônica; o baço foi coletado para a cultura de esplenócitos que depois foram estimulados ou não com anti-GITR para posterior dosagem de citocinas (IFN- $\gamma$  e IL-10) por ELISA; e o soro foi coletado nos dias 10, 20 e 30 após a infecção para a dosagem de anticorpos. Houve uma diminuição significativa no parasitismo no cérebro na fase crônica da doença. Além disso, foi observado um aumento significativo da concentração de IFN- $\gamma$  no baço, enquanto que a concentração de IL-10 manteve-se inalterada. Não houve diferenças significantes na dosagem de anticorpos (IgG total, IgG1 e IgG2a). Novos testes como curva de mortalidade, dosagem de citocinas e anticorpos na fase aguda da doença, dentre outros, são necessários a fim de melhor caracterizar a imuno-modulação feita pela molécula GITR.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, células T regulatórias, GITR.



PROJETO DE PESQUISA

**ETIOPATOGENIA DE INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA ASSOCIADA A CATETER VENOSO CENTRAL  
E AVALIAÇÃO DE UM PACOTE DE MEDIDAS NA SUA PREVENÇÃO EM NEONATOS CRÍTICOS**

Daiane S. Resende<sup>1</sup>, Denise Von Dolinger de Brito<sup>1</sup>, Jane E. Urzêdo<sup>2</sup>, Vânia O. S. Abdallah<sup>2</sup>, Paulo P. Gontijo-Filho<sup>1</sup>

1. Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Unidade de Terapia Intensiva Neonatal, Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: daianeresende\_bio@hotmail.com

As infecções de corrente sanguínea (ICSs) são responsáveis por taxas significativas de morbidade em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) resultando em hospitalização prolongada e aumento nos custos hospitalares. O Cateter Venoso Central (CVC) está entre um dos recursos mais importantes utilizados no atendimento de excelência ao neonato crítico, entretanto o uso destes dispositivos também está associado a um risco considerável de aquisição das infecções de corrente sanguínea. O estudo da patogênese dessas infecções é essencial para a elaboração de estratégias específicas com impacto na redução de taxas das mesmas. Assim, o objetivo do presente estudo é avaliar o impacto de um pacote de medidas dirigido aos cuidados e manutenção do CVC, na redução das ICS-AC, bem como a patogênese destas infecções, em uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. A pesquisa constará de um estudo experimental prospectivo para avaliação da adesão dos profissionais de saúde da unidade quanto aos cuidados designados no *bundle* dirigido aos cuidados e manutenção do CVC, e coorte prospectiva para busca de pacientes em uso de CVC com e sem infecções de corrente sanguínea associada ao CVC. O estudo será dividido em três etapas: período pré-intervenção (março/2011 a dezembro/2011), período de intervenção (janeiro/2012 e fevereiro/2012) e período pós-intervenção (março/2012 a dezembro/2012). Será realizada vigilância pelo sistema NHSN para avaliação da ocorrência de ICS-AC em neonatos críticos, no período de março de 2011 a dezembro de 2012, em busca de infecções e para definição de indicadores epidemiológicos das infecções de corrente sanguínea de origem hospitalar. Serão realizados também, inquéritos observacionais de adesão aos cuidados com o CVC propostos no pacote de medidas pelos profissionais de saúde da UTIN nos períodos pré e pós-intervenção. Após realização da intervenção, as taxas dos períodos pré e pós-intervenção serão comparadas. Para o estudo da patogênese, serão coletadas amostras da narina, da pele no sítio de inserção do CVC, do canhão, da ponta do cateter e da mucosa intestinal dos pacientes com ICS-AC por *Staphylococcus epidermidis*, e a similaridade clonal das amostras encontradas nestes sítios será realizada através da técnica de gel de eletroforese em campo pulsátil (PFGE). Apoio: CAPES, UFU.

Palavras-chave: infecção de corrente sanguínea, neonatos, patogênese, cateter venoso central.

PROJETO DE PESQUISA

**ESTUDO COMPARATIVO DA BIOLOGIA DE CARRAPATOS *Amblyomma parvum* (Aragão: 1908) (Acari: Ixodidae) DE DUAS POPULAÇÕES DISTINTAS QUANDO ALIMENTADOS EM DIVERSAS ESPÉCIES ANIMAIS E AVALIAÇÃO DE ISOLAMENTO REPRODUTIVO ENTRE ELES**

Monize Gerardi<sup>1</sup>, Maria M. M. Olegário<sup>1</sup>, Santiago Nava<sup>2</sup>, Matias P. J. Szabó<sup>1</sup>

1. Laboratório de Ixodologia, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

2. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária, Estación Experimental Agropecuária Rafaela, Rafaela, Santa Fé, Argentina

email: monizegerardi@gmail.com

Carrapatos são os principais vetores de bioagentes patogênicos para os animais e só perdem para os mosquitos no caso dos seres humanos. Recentemente houve um aumento no interesse por carrapatos de animais selvagens motivada pela percepção de que podem fazer parte do ciclo de doenças infecciosas variadas, incluindo zoonoses. O carrapato *Amblyomma parvum* é um alvo de pesquisa importante, pois seu ciclo de vida ainda não está esclarecido; foi encontrado parasitando diversos animais selvagens e domésticos e pode fixar-se em seres humanos. Além disso, isolou-se deste artrópode uma riquetsia de patogenicidade ainda desconhecida. Em uma comparação genética de amostras desta espécie de carrapato oriundas da Argentina e Brasil, observou-se haver diferenças consideráveis. Estas diferenças podem implicar em divergências na capacidade vetorial e de preferência por hospedeiros. Recentemente, em um trabalho preliminar, comparou-se a biologia de *A. parvum* do Brasil e Argentina em infestações experimentais de coelhos; diferenças no desempenho alimentar dos carrapatos de origens diversas foram relatadas, e ainda, observações iniciais indicaram a fertilidade dos carrapatos híbridos, contrastando com a diferença genética anteriormente constatada. Pelas razões expostas, o presente trabalho pretende comparar o desempenho biológico de populações de carrapato *A. parvum* da Argentina com daqueles do Brasil quando alimentados em diversos hospedeiros domésticos, e ainda, verificar de forma irrefutável a fertilidade ou não dos híbridos destes carrapatos. A comprovação da fertilidade quebraria um paradigma sobre dissimilaridade mínima do gene mitocondrial 16S para a distinção de espécies. Para tal, carrapatos adultos puros e aqueles obtidos do cruzamento de exemplares das duas populações serão alimentados sobre o mesmo hospedeiro (coelho) em seis repetições e os parâmetros reprodutivos serão comparados. Fêmeas sozinhas serão utilizadas simultaneamente como um controle da possibilidade de partenogênese. Sendo assim, o isolamento reprodutivo de carrapatos *A. parvum* das linhagens brasileira e argentina será confirmado ou refutado. Posteriormente, serão avaliados todos os parâmetros biológicos e comparados entre as duas populações quando alimentados em diversas espécies de hospedeiros, como coelho, cão, bovinos e preás. Assim, pode-se verificar se as duas populações deverão ser tratadas como espécies distintas ou apenas subpopulações com características peculiares. Estas constatações terão implicações na luta com a epidemiologia de agentes transmitidos e potencial difusão do parasito no meio rural e doméstico. Apoio: CNPq.

Palavras-chave: *Amblyomma parvum*, Argentina, Brasil.

PROJETO DE PESQUISA

**AVALIAÇÃO DA REPOSTA IMUNE E A VIA DE SINALIZAÇÃO DESENCADEADA PELA TRANSFERÊNCIA ADOTIVA DE CÉLULAS APRESENTADORAS DE ANTÍGENO ESTIMULADAS COM ANTÍGENO SOLÚVEL DE *Toxoplasma gondii* E DE *Neospora caninum***

Caroline M. Mota, Marcela D. Ferreira, Fernanda M. Santiago, Tiago W. P. Mineo, José R. Mineo

Laboratório de Imunoparasitologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: carolinemartinsm@yahoo.com.br

*Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* são parasitos intracelulares obrigatórios pertencentes ao filo Apicomplexa de distribuição mundial. Toxoplasmose é causada pelo *T. gondii* e afeta a maioria das espécies de animais de sangue quente, tendo como hospedeiro definitivo os felídeos. A infecção por *T. gondii* geralmente é assintomática em indivíduos imunocompetentes, mas pode causar abortos ou infecções congênitas em indivíduos imunocompetentes e graves conseqüências em indivíduos imunocomprometidos. *N. caninum* é o causador da neosporose, sendo os canídeos seus hospedeiros definitivos e ovinos, caprinos, bovinos e animais silvestres os seus hospedeiros intermediários. A neosporose é considerada uma importante causa de aborto em bovinos em todo o mundo, causando prejuízos no setor pecuário. Visto o impacto que essas parasitoses geram na sociedade, ampliar o conhecimento da resposta imune desencadeada por esses parasitos e as cascatas de sinalizações ativadas pode facilitar a identificação de uma vacina para controlar essas doenças. Isto requer considerável conhecimento da biologia do parasita, interação parasito-hospedeiro, diferentes estágios do ciclo de vida, antígenos críticos para a sobrevivência do parasito no hospedeiro e uma compreensão dos componentes importantes da imunidade protetora e como eles são induzidos. Assim, vacinas baseadas na indução da resposta imune celular protetora têm emergido como potenciais ferramentas. O presente estudo tem como objetivo avaliar se macrófagos e células dendríticas derivados da medula óssea estimulados com antígeno de solúvel de *N. caninum* (NLA) e *T. gondii* (STAg) são capazes de induzir resposta imune celular protetora aos parasitos e determinar o papel do fator de transcrição NF-KB na indução de uma resposta imune adaptativa. Para isso serão realizados experimentos visando a diferenciação das células da medula óssea em macrófago (BMDMs) ou em células dendríticas (BMDCs) e tratá-las com NLA ou STAg, para se avaliar a resposta imune *in vitro* e *in vivo* por meio da análise da proliferação celular e por dosagem de citocinas; determinar as vias de sinalização do fator de transcrição NF-KB na indução de uma resposta imune adaptativa por meio da detecção das citocinas, das moléculas co-estimuladoras e do complexo principal de histocompatibilidade e avaliar o efeito protetor da transferência adotiva de BMDMs e BMDCs contra o desafio letal com *N. caninum* e *T. gondii* por meio da determinação dos escores de morbidade, porcentagem de sobreviventes e carga parasitária.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, resposta imune, vacina.

PROJETO DE PESQUISA

**CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E FUNCIONAL DE PROTEÍNAS DE *Toxoplasma gondii* HOMÓLOGAS A UMA METALOPROTEASE DE *Bothrops moojeni***

Maraisa C. Silva<sup>1,2</sup>, Fernanda M. Santiago<sup>1</sup>, Arlindo G. Macedo Júnior<sup>1</sup>, Jair P. Cunha Junior<sup>1</sup>, Fábio de Oliveira<sup>2</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>

1. Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM), Universidade Federal de Uberlândia.
2. Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Nanobiofarmacêutica (N-Biofar). Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: maraisa2003@yahoo.com.br

*Toxoplasma gondii* é um protozoário parasito intracelular que afeta um terço da população mundial. A maioria dos seres humanos positivos apresenta uma infecção assintomática, com somente uma minoria da população adulta imunocompetente e crianças demonstram sintomas clínicos não específicos, por exemplo, a linfadenopatia. No entanto, em indivíduos imunocomprometidos, a toxoplasmose pode levar a manifestações clínicas como desenvolvimento de abscessos cerebrais e encefalites. A combinação de sulfatiazida e pirimetamina é o tratamento de primeira escolha da maioria das apresentações clínicas de toxoplasmose. Terapias em uso atualmente são limitadas pela resistência, toxicidade ao hospedeiro e efeitos adversos, como alergias na pele e supressão da medula óssea. Durante toda sua história, a medicina utilizou substâncias químicas derivadas de plantas, animais e microorganismos para tratar doenças humanas. Estudos recentes relatam que as peçonhas brutas das serpentes de *Bothrops moojeni*, *Crotalus durissus terrificus*, *C. durissus cascavella* e *C. durissus collilineatus* e a enzima LLAO (L-aminoácido oxidase) denominada BpirLAAO-I, isolada da peçonha de *B. pirajai* mostraram uma eficiente atividade anti-*Leishmania*. Toxinas obtidas das secreções de algumas espécies de anfíbios também se mostraram efetivas contra agentes etiológicos da doença de Chagas, leishmaniose visceral e toxoplasmose. Neste contexto, o presente projeto tem por objetivo caracterizar estrutural e funcionalmente proteínas em taquizoítas de *T. gondii* com homologia a metaloprotease BmooMPA $\alpha$ -I, isolada da peçonha bruta de serpente *B. moojeni*, contribuindo para um melhor entendimento do mecanismo de ação das proteases de *T. gondii* envolvidas tanto no processo de invasão como de saída do parasito da célula hospedeira para infectar células circunvizinhas. Isso, permitirá a elaboração de uma estratégia que possa interferir não apenas na replicação intracelular, mas também em outras etapas fundamentais do ciclo lítico desse parasito, como a infecção de novas células hospedeiras.

Palavras-chave: *Bothrops moojeni*, *Toxoplasma gondii*, metaloprotease

PROJETO DE PESQUISA

**UTILIZAÇÃO DE PEPTÍDEOS NATIVOS DOS ANTÍGENOS P30 (SAG1), P22 (SAG2A) E P97 DE *Toxoplasma gondii* EM IMUNOENSAIOS APLICADOS EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DE GESTANTES E RECÉM-NASCIDOS COM DIAGNÓSTICO CLÍNICO PRESUNTIVO DE TOXOPLASMOSE RECENTE**

Fernando R. Carvalho, Jair P. Cunha Junior, Tiago W. P. Mineo, Deise A. O. Silva, José R. Mineo

Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: freiscarvalho@gmail.com; jrmineo@gmail.com

A toxoplasmose, doença causada pelo protozoário apicomplexa *Toxoplasma gondii*, tem importância médica de destaque na gravidez devido ao risco de infecção fetal. Dentre os grupos de indivíduos em que o diagnóstico desta infecção é mais crítico, estão mulheres grávidas que adquirem a infecção primária durante a gestação e fetos e recém-nascidos que adquirem a infecção congênita. Porém, a situação mais desafiadora é determinar se uma mulher grávida adquiriu a infecção antes ou durante a gestação, uma vez que há grande número de resultados falso-positivos e falso-negativos obtidos a partir dos testes sorológicos empregados na detecção de anticorpos específicos em amostras de soro de pacientes, principalmente com relação à detecção de anticorpos IgM e IgA anti-*T. gondii*, dificultando o estabelecimento do diagnóstico da infecção primária e infecção congênita. Sendo assim, este projeto objetiva investigar a aplicabilidade de novos marcadores moleculares na determinação das fases da toxoplasmose adquirida e congênita na espécie humana, em especial peptídeos nativos obtidos a partir de moléculas expressas no parasita. Para isso, antígeno solúvel de taquizoítas de *T. gondii* (STAg) será fracionado por precipitação com concentrações crescentes de sulfato de amônia [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>], e as frações obtidas serão submetidas à separação eletroforética uni- e bidimensional (SDS-PAGE 1D e 2D) e posteriormente serão incubadas com os anticorpos monoclonais (mAbs) A3A4 (anti-p30/SAG1), A4D12 (anti-p22/SAG2A) e 1B8 (anti-p97), os quais serão obtidos a partir da coleta do sobrenadante de cultura dos hibridomas secretores de cada anticorpo específico e purificados em resina de imunoafinidade de Proteína G-sepharose. A obtenção de peptídeos nativos será feita a partir de modificação do método descrito por REICHMANN e colaboradores (2001), em que frações do STAg reconhecidas pelos mAbs A3A4, A4D12 e 1B8 serão eluídas e submetidas à digestão por tripsina. A seguir, os peptídeos presentes em cada fração serão separados por HPLC de fase reversa e cada fração obtida será analisada por espectrometria de massa. Para padronização de ensaios imunoenzimáticos (ELISA) usando peptídeos nativos de *T. gondii* reconhecidos pelos mAbs A3A4, A4D12 e 1B8, serão utilizadas amostras de referência de soros e líquido cefalorraquidiano do Banco de Amostras Biológicas do Laboratório de Imunoparasitologia (UFU), previamente divididas em quatro grupos, de acordo com o perfil sorológico da infecção determinado por meio de ensaios sorológicos convencionais. Os imunoenaios a serem padronizados com os peptídeos nativos e as amostras de soros e líquido cefalorraquidiano serão específicos para a detecção de anticorpos IgG (IgG total, IgG1 e IgG2), IgM, IgA e IgE anti-*T. gondii*, além da avidéz de IgG. Tais imunoenaios padronizados serão validados com um painel de amostras pareadas de soros de gestantes e recém-nascidos, com diagnóstico clínico presuntivo de toxoplasmose recente. Apoio: ICBIM/UFU, CAPES, CNPq, FAPEMIG.

Palavras-chave: toxoplasmose congênita, sorodiagnóstico, peptídeos nativos.

PROJETO DE PESQUISA

**CARACTERIZAÇÃO DE ANTÍGENOS DE *Neospora caninum* PARA PRODUÇÃO DE INSUMOS COM VALOR DIAGNÓSTICO, PROFILAXIA E PROTEÇÃO NA NEOSPOROSE**

Arlindo G. Macêdo Júnior<sup>1</sup>, Jair P. Cunha Junior<sup>1</sup>, Fernanda M. Santiago<sup>1</sup>, Murilo V. Silva<sup>1</sup>, Pollyanna C. A. Vieira<sup>1</sup>, Marcela D. Ferreira<sup>1</sup>, Flávia B. Ferreira<sup>1</sup>, Deise A. O. Silva<sup>1</sup>, Carlos P. Pirovani<sup>2</sup>, José R. Mineo<sup>1</sup>, Tiago W. P. Mineo<sup>1</sup>

1. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

2. CBG/Universidade Estadual de Santa Cruz, Bahia, Brasil.

e-mail: agmacedojr@gmail.com

*Neospora caninum* é um protozoário intracelular obrigatório, do filo Apicomplexa, estreitamente relacionado a *Toxoplasma gondii*. Descrito no final dos anos 80 como responsável por doenças neuromusculares em filhotes caninos infectados de forma transplacentária, foi relacionado a abortos bovinos na década de 90. Desde então, este parasito tem despertado interesse de pesquisadores ao redor do mundo por sua capacidade de induzir perdas reprodutivas. A julgar pelo fato que o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, considera-se que o impacto desta parasitose sobre a cadeia de produção de carne e leite nacionais apresenta importante magnitude. Vários tipos de vacinas contra *N. caninum* utilizando parasitos vivos, irradiados ou lisados e proteínas recombinantes têm sido avaliadas. Entretanto, a proteção conferida é, na maioria das vezes, parcial e dependente dos adjuvantes utilizados. O diagnóstico laboratorial da neosporose é classicamente realizado por meio do teste de imunofluorescência indireto que, apesar de ser utilizado como um teste de referência apresenta limitações como fato de ser um ensaio que depende da interpretação subjetiva do observador. Atualmente encontra-se um número considerável de testes sorológicos que têm sido desenvolvidos para a detecção de anticorpos específicos para *N. caninum*. No entanto, estes ainda carecem de padronização adequada nos critérios utilizados na interpretação dos resultados que possuem limitações através de limiares de reatividade extremamente variáveis em diferentes estudos soropidemiológicos e clínicos. O presente projeto tem como objetivo geral a produção de insumos moleculares a serem utilizados em métodos laboratoriais para identificação de *N. caninum* em amostras animais bem como para utilização destes como ferramentas em medidas de profilaxia e controle da infecção vertical na neosporose. Dessa forma, pretendemos produzir e selecionar hibridomas secretores de anticorpos monoclonais reativos contra epítomos imunodominantes de antígenos de *N. caninum*, bem como a identificação e caracterização dos alvos antigênicos reconhecidos. A partir dos alvos antigênicos selecionados pelos anticorpos monoclonais será realizada a purificação de proteínas nativas e produção de antígenos recombinantes seguido de avaliação sobre os seus potenciais como insumos para monitoramento da neosporose em hospedeiros intermediários e definitivos. Apoio: UFU, CNPq, FAPESP, FAPEMIG.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, neosporose, diagnóstico, profilaxia.

PROJETO DE PESQUISA

**FRACIONAMENTO DE ANTÍGENO HETERÓLOGO POR TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS NO  
IMUNODIAGNÓSTICO DA NEUROCISTICERCOSE HUMANA**

Daniela S. Nunes<sup>1</sup>, Vanessa S. Ribeiro<sup>1</sup>, Jair P. Cunha Junior<sup>2</sup>, Maria do Rosário F. G. Pires<sup>1</sup>, Julia Maria Costa-Cruz<sup>1</sup>

1. Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses, Universidade Federal de Uberlândia.

2. Laboratório de Imunologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: dani.elanunes@hotmail.com; costacruz@ufu.br

O complexo Teníase-Cisticercose está presente principalmente nos países em desenvolvimento, sendo influenciado por fatores demográficos, culturais e políticos, e em países desenvolvidos com alta taxa de imigração de áreas endêmicas. Em humanos, a forma metacestódea de *Taenia solium* pode se instalar praticamente em todos os órgãos do corpo, sendo o SNC a localização mais importante, causando a forma mais grave e frequente, a neurocisticercose (NC). Diante da necessidade de utilização de antígenos alternativos para o diagnóstico da NC em testes sensíveis e específicos, a utilização de proteínas antigênicas purificadas consiste em uma importante ferramenta para que o diagnóstico da NC seja realizado mesmo na ausência do antígeno homólogo. O projeto tem como objetivo realizar o fracionamento de antígeno heterólogo por técnicas cromatográficas no imunodiagnóstico da NC. Serão analisadas 120 amostras de soro de pacientes, divididos em três grupos. Grupo 1 (n=40): pacientes com diagnóstico definitivo para NC. Grupo 2 (n=40): pacientes com outras parasitoses. Grupo 3 (n=40): pacientes saudáveis. Serão realizadas técnicas cromatográficas de gel filtração e fase reserva, a partir do extrato salino total de metacestódeos de *Taenia saginata*. Os testes *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) e *Western Blotting* (WB), serão realizados para detecção de IgG anti-metacestódeos de *T. solium* nas amostras de soro. As variáveis serão analisadas com os testes específicos, paramétricos ou não paramétricos, segundo a distribuição dos dados. As diferenças estatisticamente significantes serão consideradas quando  $p < 0,05$ . A análise comparativa entre as frações antigênicas e entre os grupos no ELISA e na frequência de reconhecimento das bandas no WB será realizada no programa BioEstatic versão 2.0, utilizando o teste de diferença entre duas proporções. Serão calculadas: sensibilidade, especificidade e eficiência de diagnóstico. Os resultados do presente projeto possibilitarão a obtenção de antígenos alternativos, através das técnicas cromatográficas de gel filtração e fase reversa no imunodiagnóstico da NC. Apoio: CAPES, UFU.

Palavras-chave: fracionamento, imunodiagnóstico, neurocisticercose.



PROJETO DE PESQUISA

**AVALIAÇÃO DE PEPTÍDEOS NO CONTROLE DA CISTICERCOSE**

Marianna N. Manhani<sup>1,2</sup>, Cristiane Q. Tilelli<sup>2</sup>, Luiz Ricardo Goulart<sup>1</sup>, Julia M. Costa-Cruz<sup>1</sup>

1. Universidade Federal de Uberlândia.

2. Universidade Federal de São João Del Rei.

e-mail: marianna\_nm@hotmail.com; costacruz@ufu.br

Neurocisticercose humana (NC) é a parasitose mais freqüente do SNC, causada pela instalação de metacestódeos de *Taenia solium* no sistema nervoso central. Para estabelecer o diagnóstico de NC é necessário avaliar corretamente sintomas clínicos, testes de neuroimagem e de imunodiagnósticos, e os dados epidemiológicos. A forma metacestódea pode persistir no hospedeiro humano por longos períodos permanecendo assintomática. Em contraste a resposta inflamatória ao redor do metacestódeo degenerado pode principiar os sintomas, caracterizados por encefalite, hipertensão intracranial aguda, hidrocefalia e ataques epiléticos. A frequência da NC varia de 0,2% a 52,0% mundialmente. No Brasil, a soroprevalência da NC pode variar de 29,4 – 64%, com média de 7,04%. Devido às dificuldades de tratamento da NC, busca-se a implantação de medidas de controle, como a vacinação. Várias vacinas foram testadas com proteção promissora contra cisticercose. O resultado mais promissor foi o da vacina anti-cisticercose S3Pvac, composta por três peptídeos selecionados por *phage display*. O objetivo desse trabalho é avaliar a resposta imunológica induzida após inoculação de peptídeos selecionados pela técnica de *phage display* contra anticorpos anti-metacestódeos de *T. solium*, expressos em fagos e sintéticos, em camundongos BALB/c infectados experimentalmente com *Taenia crassiceps*. O mimetopo Cc48 expresso em bacteriófago M13, previamente selecionados por *phage display* contra anticorpos IgY anti-metacestódeos de *T. solium*, será reamplificado em cultura de *Escherichia coli* e sintetizado por empresa especializada. Fêmeas de camundongos Balb/c de 3 a 5 semanas de idade serão divididos em 4 grupos, com 40 animais cada: G1) animais infectados e imunizados com peptídeo expresso em fagos; G2) animais infectados e imunizados com peptídeo sintético; G3) animais infectados e não imunizados; G4) animais não infectados e não imunizados. A imunização será por inoculação intra-dérmica com peptídeo diluído em salina (2 µg) ou somente salina, em volume final de 200 µl, com reforços nos pontos 7, 23, 38 e 53 dias após infecção (dpi). Para determinação da carga parasitária, dez dias após a primeira imunização os animais serão desafiados com dez cisticercos de *T. crassiceps* e será realizada a medida da circunferência abdominal e contagem de cisticercos em dez animais em pontos determinados (15, 30, 45 e 60 dpi). Amostras de sangue serão coletadas por meio de punção venosa retro-orbital, após anestesia, antes e após cada imunização para detecção de anticorpos totais (IgG, IgG1, IgG2a, IgM, IgA e IgE), citocinas (IFN-gama, IL-4), e contagem total e diferenciada de células sanguíneas.

Palavras-chave: neurocisticercose, peptídeos, vacinação.



PROJETO DE PESQUISA

**EPIDEMIOLOGIA DE PNEUMONIAS ASSOCIADAS À VENTILAÇÃO MECÂNICA POR *Pseudomonas aeruginosa* RESISTENTE AO IMIPENEM EM PACIENTES INTERNADOS NA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA ADULTA MISTA DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO**

Everton R. Silva, Paulo P. Gontijo Filho

Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: evertongo@gmail.com

Introdução: Pneumonia Associada à Ventilação (PAV) é a infecção hospitalar mais frequente nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) de Adultos e está relacionada com maior morbidade e mortalidade e aumento dos custos. *Pseudomonas aeruginosa* é o principal agente desta infecção, usualmente multirresistente aos antimicrobianos, o que dificulta a antibioticoterapia e leva a uma terapêutica inadequada, resultando numa mortalidade elevada, além de maior pressão seletiva na Unidade Hospitalar. Objetivo: Analisar as epidemiologias clássica e molecular de PAV por *P. aeruginosa* susceptível/resistente aos carbapenêmicos e sua relação com o uso destes antimicrobianos em pacientes internados numa UTI de Adultos. Material e Métodos: O estudo será realizado na UTI de Adultos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Será realizado um estudo de coorte prospectivo, incluindo os pacientes com PAV por *P. aeruginosa* internados na UTI, entre julho/2011 a julho/2012. As PAVs serão definidas por critérios clínicos, radiológicos, laboratoriais (leucocitose > 11.000 leucócitos/mL) e microbiológicos (contagem  $\geq 10^6$  UFC/mL de aspirado traqueal). Os pacientes com PAV serão detectados por vigilância ativa na Unidade e uma ficha individual será preenchida com dados demográficos, fatores de risco e evolução clínica. O projeto será submetido ao Comitê de Ética da UFU. A coleta do aspirado traqueal será realizada pelos profissionais da Unidade e será encaminhado para o setor de Microbiologia do Laboratório de Análises Clínicas do HC-UFU. A identificação do microrganismo quando de cultura positiva será feita por testes fenotípicos clássicos e o perfil de susceptibilidade das amostras será determinado pelos métodos de disco difusão e diluição em gel (MIC) de acordo com a metodologia do “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2009). Adicionalmente, o uso dos antibióticos, cefalosporinas de amplo espectro e carbapenêmicos, serão avaliados pela Dose Diária Definida de antimicrobianos por 1000/pacientes-dia (DDD/1000 pacientes-dia). Além disso, os seguintes indicadores epidemiológicos serão definidos: índice de incidência de PAVs em geral e positivas para *P. aeruginosa* (frequência/1000 dias de ventilação mecânica) e de utilização de ventilação mecânica na UTI. A seguir, serão realizados testes para detecção dos fenótipos de resistência (AmpC, ESBL, MBL). As amostras com resistência aos carbapenêmicos com e sem definição do fenótipo MBL terão o perfil genotípico (SPM, IMP e VIM) avaliado pela técnica de PCR utilizando *primers* descritos na literatura. A similaridade clonal será testada pela técnica de eletroforese em campo pulsado (PFGE) para definição de uma prevalência clonal/policlinal na Unidade. Apoio: CAPES, CNPq.

Palavras-chave: PAV, *Pseudomonas aeruginosa*, carbapenêmicos.

PROJETO DE PESQUISA

**EPIDEMIOLOGIA DE PAVS POR *Acinetobacter baumannii* RESISTENTE AO IMIPENEM EM PACIENTES INTERNADOS EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA (UTI) DE ADULTOS, CLÍNICO-CIRÚRGICA, DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO**

Sabrina Royer, Paulo P. Gontijo Filho

Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: sabriroyer@yahoo.com.br

*Acinetobacter baumannii* é um dos principais agentes de pneumonias associadas à ventilação mecânica (PAVs) em pacientes internados em unidades críticas nos hospitais brasileiros, resultando em mortalidade e custos elevados. A importância crescente deste microrganismo decorre de sua resistência intrínseca à maioria dos antibióticos e germicidas, e viabilidade prolongada em superfícies secas, passíveis de contato das mãos dos profissionais de saúde, tornando o ambiente um reservatório secundário. O presente projeto objetiva realizar um estudo epidemiológico clássico e molecular de PAVs causadas por *Acinetobacter baumannii* susceptível/resistente aos carbapenêmicos na UTI de Adultos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Será realizado um estudo de coorte prospectivo incluindo pacientes com diagnóstico de PAV por *Acinetobacter baumannii*, internados no período de julho de 2011 a julho de 2012. Ao mesmo tempo, será coletado material do ambiente, em superfícies próximas de pacientes com PAV, definida por critérios clínicos, radiológicos, laboratoriais (leucocitose > 11.000 leucócitos/mL) e microbiológicos (contagem  $\geq 106$  UFC/mL de aspirado traqueal). Os pacientes com PAV serão detectados por vigilância ativa na unidade e uma ficha individual será preenchida com os dados demográficos, clínicos, epidemiológicos e com a evolução clínica do paciente. O projeto será submetido ao Comitê de Ética da UFU. O aspirado traqueal será processado no Laboratório de Microbiologia do ICBIM/UFU nos meios: Agar MacConkey, Agar *Pseudomonas*, Agar Sangue e/ou Agar Manitol Salgado, e as colônias suspeitas identificadas através de métodos fenotípicos clássicos. Os seguintes indicadores epidemiológicos de infecções hospitalares serão definidos: taxas de pacientes em uso de prótese ventilatória (frequência/1000 dias de ventilação mecânica), densidade de uso de prótese ventilatória, escore de gravidade "ASIS". A susceptibilidade das amostras será determinada pelos métodos de disco difusão e diluição em gel (MIC) de acordo com a metodologia do "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI, 2009), e quando da resistência aos carbapenêmicos serão caracterizadas como do fenótipo produtor de carbapenemases pelo teste de Hodge e neutralização com EDTA. A identificação dos genótipos de enzimas da classe D (OXA-23) e B (metalo- $\beta$ -lactamases) será feita pela técnica de PCR utilizando-se os *primers* descritos na literatura. O perfil de similaridade clonal será realizado pela técnica de eletroforese em campo pulsado (PFGE) para avaliação de clones prevalentes em espécimes clínicos e no ambiente. Apoio: CAPES, CNPq.

Palavras-chave: PAV, *Acinetobacter baumannii*, ambiente.

PROJETO DE PESQUISA

**PRESENÇA DE *Streptococcus agalactiae* E *Escherichia coli* NA MUCOSA VAGINAL/PERIANAL DE GESTANTES E SUA CORRELAÇÃO COM SEPSE NEONATAL PRECOCE**

Nayara G. Barbosa, Paulo P. Gontijo Filho, Denise V. D. Brito

Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: marthyamorim@hotmail.com

A sepse neonatal precoce refere à infecção cuja evidência diagnóstica (clínica/laboratorial/microbiológica) ocorreu nas primeiras 48 horas de vida, associados a fatores de risco maternos para infecção. A transmissão tem como premissa a colonização do trato geniturinário por microrganismos potencialmente patogênicos, os principais agentes são o *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli*, cujos reservatórios primários são o trato gastrointestinal; a infecção se dá no momento do parto ou a partir da exposição fetal em casos de rotura prematura de membranas pré-termo (RPM-PT). O presente projeto tem como objetivo avaliar a colonização vaginal e perianal em gestantes >35 semanas por *S. agalactiae* e *Escherichia coli*, correlação com sepse precoce nos respectivos recém-nascidos, fatores de risco para colonização e sepse, uso profilático/terapêutico de antibióticos pela mãe e sua adequação/inadequação em relação à etiologia e perfil de resistência dos microrganismos isolados, bem como a vigilância destas infecções na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Serão coletados espécimes clínicos a partir de *swabs*, provenientes de mucosa vaginal e perianal de gestantes atendidas nos Serviços de Ginecologia e Obstetrícia do HC-UFU no período de Jan/2011 à Dez/2011, uma ficha individual será preenchida com dados demográficos socioeconômicos, reprodutivos, clínico-obstétricos, bem como dados dos respectivos neonatos, somente serão incluídas no estudo aquelas que aceitarem e permitirem a participação de seus filhos mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. As amostras *Streptococcus agalactiae* serão identificadas através da análise das características morfo-tinturiais, catalase, teste de CAMP e aglutinação em látex; enquanto que as de *Escherichia coli* serão identificadas por série bioquímica clássica, o teste de resistência através da técnica de difusão em Agar. A vigilância será realizada na UTIN a partir do sistema NHSN, a sepse precoce será definida por critérios clínicos, laboratoriais e microbiológicos, de acordo com os critérios do CDC. Os resultados esperados fornecerão material para retro-alimentação dos profissionais na unidade, no intuito de promover benefícios para a população atendida.

Palavras-chave: colonização materna, sepse neonatal precoce, *S. agalactiae*

PROJETO DE PESQUISA

**IMPACTO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DE FLUIDOS DE CORTE E FORMAÇÃO DE BIOFILME PARA A  
INDÚSTRIA NACIONAL**

Marcília B. A. Finzi, Geraldo B. Melo, Álisson R. Machado

Laboratório de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia.

e-mail: marthyamorim@hotmail.com

Fluidos de corte (FC) são amplamente utilizados na indústria mecânica durante os processos de usinagem de peças metálicas (torneamento, mandrilamento, furação, rosqueamento, entre outros), com o objetivo de obter refrigeração e lubrificação na interface peça/cavaco-ferramenta, aumentar a vida útil da ferramenta, banhar a peça e remover o cavaco gerado, proteger a ferramenta, a peça e a máquina-ferramenta de corrosão, reduzir o atrito e melhorar o acabamento geral da peça. Geralmente, as propriedades físicas e químicas dos FC são modificadas durante o seu uso, armazenamento por longos períodos, ou sob ação de microrganismos, ocasionando também mudança nos riscos oferecidos aos ambientes, de trabalho e naturais. A análise microbiológica com destaque para os biofilmes formados nos equipamentos justifica-se pelo fato do comum reaproveitamento do fluido durante vários meses. Outros problemas decorrentes desta contaminação microbiológica do FC são o seu descarte prematuro e de peças em contato e problemas relacionados à saúde ocupacional dos trabalhadores expostos aos microrganismos nele contido e seus produtos (antígenos e toxinas), culminando esta exposição em dermatites e infecções respiratórias. Foi proposto neste estudo determinar o impacto da contaminação bacteriana nos FC quanto aos principais agentes contaminantes e consequências desta contaminação para o fluido amplamente utilizado na indústria, analisando-os quanto aos tipos (integrais e a base de água), concentrações (3%, 7% e 10% ou outra que for utilizada pela indústria parceira). Tendo em vista a necessidade de melhor compreensão da fonte desta contaminação, o estudo considerará diversos fatores (água, biofilme da máquina ou colonização do operador). Este estudo terá como metodologia a coleta de amostras de fluidos de corte, de superfícies da máquina-ferramenta em contato com o fluido, da água, mangueira e dos trabalhadores envolvidos na sua operação (mãos e narina). As amostras coletadas no Laboratório de ensino e pesquisa em Usinagem e na indústria parceira local são analisadas no laboratório de microbiologia ICBIM/UFU para detecção do agente etiológico envolvido (métodos microbiológicos clássicos e PCR para identificação de genes responsáveis pela adesão intercelular). Para detecção da presença de biofilme também será utilizado o microscópio eletrônico de varredura para análise de fragmentos da mangueira por onde o fluido circula na máquina.

Palavras-chave: biofilme, microrganismos, indústria mecânica.