

**REVISTA**  
**Fiocruz Rondônia**

Ciência, Tecnologia, Inovação e  
Informação à Serviço da Saúde

ISSN: 2317-8140 Vol. 2, Nº. 1, Jul. 2015

LÉO RAMOS

# ANUÁRIO 2013-2014

*do Polo Tecnológico de Pesquisa, Inovação,  
Desenvolvimento e Difusão em Saúde*

★ 16 de setembro de 1928

† 24 de setembro de 2014



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ Rondônia**  
Fundação Oswaldo Cruz



Ministério da  
Saúde





# REVISTA FIOCRUZ RONDÔNIA

Ciência, Tecnologia, Inovação e Informação à Serviço da Saúde

Volume 2, Número 1, 2015

Anuário 2013-2014 do Polo de Pesquisa, Formação,  
Desenvolvimento, Inovação e Difusão em Saúde

Leonardo de Azevedo Calderon (Editor)  
Carla Freire Celedonio Fernandes (Co-editora)  
Alexandre da Silva Almeida (Diagramador)

## Parcerias Institucionais:



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ Rondônia**  
Fundação Oswaldo Cruz



Ministério da  
Saúde



Copyright © 2013 dos organizadores  
Todos os direitos desta edição reservados à  
Fundação Oswaldo Cruz

*Imagem da capa e contra-capa: Léo Ramos (Edição Fundação Conrado Wessel/Revista Pesquisa FAPESP) e Alexandre da Silva Almeida (Fiocruz Rondônia)*

Capa: Alexandre da Silva Almeida e Leonardo de Azevedo Calderon

*Calderon, L.A. (Editor)*  
*Fernandes, C.F. (Co-editora)*  
*Almeida, A.S. (Diagramador)*

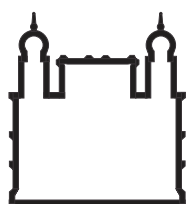
*Anuário 2013-2014 do Polo de Pesquisa, Formação, Desenvolvimento, Inovação e Difusão em Saúde. Revista Fiocruz Rondônia - Ciência, Tecnologia, Inovação e Informação a Serviço da Saúde. Número 1. Volume 2. Fiocruz Rondônia. Porto Velho, 2015. 173 pg.*

*1. Relatório; 2. Laboratórios; 3. Ambulatórios; 4. Produção; 5. Publicações; 6. Orientações; 7. Atendimentos.*

2015  
Fiocruz Rondônia - Fundação Oswaldo Cruz  
Rua da Beira, 7671, Bairro Lagoa  
76812-245 - Porto Velho - RO  
Telefone: (69) 3219-6000  
Telefax: (69) 3219-6000  
<http://www.rondonia.fiocruz.br>

## SUMÁRIO

1	<b>Mensagem do Diretor</b> Por Ricardo de Godoi Mattos Ferreira
3	<b>Carta aos amigos - Luiz, o Prof. Hildebrando</b> Por Rodrigo Guerino Stábeli
6	<b>Combate sem Trégua - Edição Fundação Conrado Wessel / Revista Pesquisa FAPESP (Reprodução com autorização)</b>
12	<b>Ensino, Formação Avançada, Informação e Comunicação</b>
12	Formação Stricto Sensu
12	Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental (PGBIOEXP)
14	Programa de Pós-Graduação da Rede BIONORTE
14	Formação Lato Sensu
14	Iniciação Científica e Tecnológica
15	PIBIC
16	PIBIT
16	CIEE
17	Eventos em 2013
25	Eventos em 2014
34	<b>Pesquisa e Desenvolvimento</b>
35	Relação de Artigos, Livros e Capítulos Publicados entre 2001 e julho de 2014
45	<b>Relatório de Atividades 2013 e 2014 das Subunidades Laboratoriais</b>
	<b>Subunidades de Pesquisa</b>
46	Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde - CEBio
60	Plataforma de Bioensaios de Malária e Leishmaniose
65	Laboratório de Bioinformática e Bioestatística
68	Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Saúde
72	Laboratório de Engenharia de Anticorpos
77	Laboratório de Entomologia
86	Laboratório de Epidemiologia Genética
89	Laboratório de Imunologia Celular Aplicada à Saúde
95	Laboratório de Microbiologia
100	Plataforma Técnica
	<b>Subunidades de Pesquisa, Diagnóstico Especializado e Atendimento Referenciado</b>
106	Ambulatório Especializado em Hepatites Virais
109	Laboratório de Virologia (Arbovírus)
115	Laboratório de Epidemiologia
	<b>Subunidades de Apoio aos Laboratórios</b>
120	Gestão da Qualidade dos Laboratórios
122	Plataforma de Criação e Experimentação Animal
126	Programa e Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia e II Encontro de Pós-Graduação em Saúde de Rondônia
129	Resumo Palestrantes
159	Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ Rondônia**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

Rua da Beira, 7671, Bairro Lagoa, Porto Velho-RO  
CEP: 76812-245. Telefone/Fax: 3219-6000

---

Paulo Gadelha  
***Presidente***

Rodrigo Guerino Stábeli  
***Vice-Presidente de Pesquisa e Laboratórios de Referência***

Nísia Trindade Lima  
***Vice-Presidente de Ensino, Informação e Comunicação***

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

Jorge Bermudez  
***Vice-Presidente de Produção e Inovação em Saúde***

Pedro Ribeiro Barbosa  
***Vice-Presidente de Gestão e Desenvolvimento Institucional***

Ricardo de Godoi Mattos Ferreira  
***Diretor***

Leonardo de Azevedo Calderon  
***Vice-Diretor de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação***

Carla Freire Celedônio Fernandes  
***Vice-Diretora de Ensino, Informação e Comunicação***

Juan Miguel Villalobos Salcedo  
***Vice-Diretor de Serviços de Saúde e Pesquisa Clínica***

## Mensagem do Diretor

A Fiocruz Rondônia segue avançando em seu trabalho de estruturação e aos poucos vem conquistando o reconhecimento por sua atuação nas áreas de educação, pesquisa e saúde dentro do Estado de Rondônia.

Em fevereiro de 2010, ingressei no grupo como pesquisador visitante. Aos poucos, me envolvi em algumas atividades de apoio à direção, aqui em Rondônia e também no Rio de Janeiro. Em junho de 2011, convidado pelo Rodrigo, assumi a Vice Diretoria de Gestão e Desenvolvimento Institucional. Já em dezembro de 2012 passei a integrar o quadro de servidores da Fiocruz como pesquisador. Em junho de 2013, com a saída do então diretor Rodrigo Guerino Stabeli, para assumir a Vice-Presidência de Pesquisa e Laboratórios de Referências, fui conduzido à direção para continuar trilhando o trabalho empreendido pela gestão anterior além da busca da implantação de novos projetos, fortalecendo a pesquisa, melhoria nos serviços e diagnósticos de referência, e buscando trazer inovações no processo de gestão estratégica a partir de mecanismos que permitam maior participação e interação entre nossos colaboradores promovendo a integração de nossas ações.

É importante destacar a importância da Vice-Presidência de Pesquisa para o conjunto da Fiocruz. O convite feito pelo Presidente Paulo Gadelha ao Rodrigo Stabeli representa o reconhecimento pelo trabalho que ele vinha realizando e certamente pelos resultados obtidos por toda a equipe, desde as primeiras ações de pesquisa em malária no hospital CEMETRON (Centro de Medicina Tropical de Rondônia). O PGBIOEXP (Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental), em parceria com a UNIR (Universidade Federal de Rondônia), já ultrapassa a marca de 132 Mestres e 22 Doutores formados é, talvez, o melhor exemplo da importância da parceria entre UNIR/CEPEM/IPEPATRO e agora Fiocruz Rondônia.

Em 2013, por meio do concurso da Fiocruz, passaram a integrar o grupo da Fundação em Rondônia, outros seis servidores: Carolina Bioni Garcia Teles, Genimar Rebouças Julião, Jansen Fernandes de Medeiros, Quintino Moura Dias Júnior e Roberto Nicolete. Foi também aprovado o provimento de mais 12 vagas em concurso realizado em 2014.

Grande esforço vem sendo realizado pela direção, em parceria com a DIRAC/Fiocruz e o Governo do Estado de Rondônia para a construção do Polo de Pesquisa, Inovação, Desenvolvimento e Difusão em Saúde do Estado de Rondônia: da biotecnologia a geração de políticas públicas, em parceria com CEPEM, UNIR, IPEPATRO e com apoio financeiro da FINEP. Mais recentemente vem sendo intensificada a importante parceria com a EMBRAPA, com a aprovação de projetos de pesquisa em comum.

Além das ações em pesquisa e desenvolvimento tecnológico, a Fiocruz tem papel importante na promoção e atenção à saúde, com compromisso de fortalecer as diversas áreas do



Diretor Ricardo de Godoi na abertura do Workshop "Multidisciplinary Malaria Research in the Era of Eradication"  
Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

Sistema Único de Saúde (SUS). Através da Vice Diretoria de Ensino, Informação e Comunicação juntamente com a professora Kátia, com a UFMS (Universidade Federal do Mato Grosso do Sul), Fiocruz Mato Grosso do Sul e SESAU (Secretaria de Saúde), foi organizado o curso de especialização em saúde da família para mais de 280 profissionais da saúde, a ser iniciado em 2014.

Por fim, além das grandes conquistas alcançadas, a importância que tem a presença nacional da Fiocruz e o papel estratégico assumido pela instituição de contribuir, por meio da ciência e tecnologia em saúde, com o desenvolvimento sustentável, reduzindo as desigualdades regionais de nosso País.

Nesse momento, em que a Fiocruz passa a consolidar sua presença no Estado de Rondônia, é fundamental que seja mantido o espírito colaborativo de nossa equipe. Também é imprescindível a busca de sinergia na atuação das instituições parceiras, para que vençamos os desafios regionais, e, de forma ousada, possamos contribuir com o desenvolvimento científico internacional.

Em 2014, o ano será de avanço em projetos e com a perspectiva de acesso de novos servidores após a realização de novo concurso público.

Cada vez mais orgulho de ser Fiocruz.

Boa leitura a todos



## Carta aos amigos - Luiz, o Prof. Hildebrando

Meus queridos amigos-irmãos de Rondônia

Escrevo a todos vocês para comungar da dor e da tristeza que invade cada um de nós pela perda daquele nos deu o primeiro sopro de vida, Prof. Luiz Hildebrando da Silva.

Estive pensando muito se faria mesmo uma mensagem, ou uma nota e hoje, defronte ao meu memorial, e de uma foto do Luiz que preparo para estar na minha sala, no castelo de Oswaldo, tão visionário quanto, a saudade de todos vocês apertou.



Vice-presidente de Pesquisa e Laboratórios de Referência, Rodrigo Stabeli, participou da homenagem ao professor Luiz Hildebrando Pereira da Silva

Portanto a mensagem que segue não vai em forma de discurso ou de filete de autoajuda pela perda de nosso grande mentor e líder. Também não estou me preocupando com a forma literária e com nossa enrascada língua portuguesa. De repente esta, poderá até ficar extensa mas, ainda não sei. Seque em forma de meu particular carinho, admiração e respeito que adquiri de todos que aí estão e que contribuíram de uma forma ou de outra para alicerçar os tijolinhos de nossa instituição. Tijolinhos esses que em sua maioria é sentimental e não físico. Aprendemos a sentir em nosso coração, a importância da ciência e tecnologia para o desenvolvimento das regiões do Brasil. Aprendemos quão nobre se torna os achados científicos quando eles transformam uma região para mais rica. Mais rica de cultura, mais rica de conhecimento, mais rica de melhores professores, mais rica de profissionais de saúde qualificados, mais rica de valores intangíveis e econômicos para a região, mais rica de pessoas com valores pessoais afinados com o ditado “é doando que verdadeiramente se recebe”.

Talvez o mais curioso e, ao mesmo tempo interessante, é de se tentar entender como que esses valores entraram em nossos corações e creio que cada um de vocês já se pegaram pensando sobre isso também. Principalmente os companheiros que como eu, migraram de outra região do país e do mundo para fazer de Rondônia nossa cara.

Luiz, o tal Prof. Hildebrando

É ai que entra Luiz, o Hildebrando. Luiz nunca nos colocou em uma sala de aula para fazer nossa iniciação nos valores da ciência para o desenvolvimento regional. Luiz trasbordava em seus olhos tais valores. Bastavam cinco minutos de prosa e meio dedo de cachaça com ele, sentado em sua mesa de plástico no terraço de sua humilde porém calorosa residência, para perceber que Luiz não falava do Ipepatro como uma instituição de CTI como outra qualquer. Ele falava de sua própria vida. Éramos os melhores do mundo. Todos que ainda não conheciam as infraestruturas do Ipepatro, acreditavam que estávamos no melhor lugar do mundo para se fazer ciência. Tínhamos cérebro e músculos para tal.

“Depois, com a aposentadoria do Instituto Pasteur, resolvi passar mais tempo em Rondônia do que em Paris. Isso se explicava. Em Paris não teria mais nenhum trabalho a desenvolver, nada a fazer. Exceto a família ...”

“Mas, pensei comigo, se ficasse como aposentado iria, envelhecendo, evoluir para

aposentado avô ranzinza.” [] “mas há um complemento de resposta que eu não revelo senão aos íntimos do “por que Rondônia”. Na verdade, creio eu, é a razão principal de eu estar aqui. Se fosse apenas uma questão de volta poderia estar em São Paulo, ou no Rio. Não é isso. A razão não tem nenhum conteúdo saudosista, caritativo, ou altruístico. Durante trinta e dois anos vivi com uma comunidade científica internacional, a mais sofisticada. Cruzei e convivi com vários prêmios Nobel. Frequentei um dos melhores institutos do mundo na área biomédica.

Laboratórios os mais modernos. Conferências diárias dos melhores especialistas mundiais. Tudo a minha disposição. Aprendi e atualizei-- me nessa Ciência, parte por esforço próprio, na maior parte por orelhada e por osmose. No Instituto Pasteur para aprender, não se tem nada mais a fazer do que manter as orelhas atentas. E agora? Aposentado? Toda essa Ciência que degluti e absorvi durante anos serve a alguma coisa? Note--se bem a pergunta: o conhecimento, o saber. servem a alguma coisa, dissociada dos instrumentos que a acompanharam? De todos os equipamentos, aparelhos, máquinas, reativos e reagentes que abundam no Instituto em que vivi e com quem trabalhei? E sem eles? Valho alguma coisa? Entre os dois componentes básicos da ação do cientista: o cérebro de um lado, que absorve a informação e elabora hipóteses e soluções, e os músculos, de outro que executam com suas extensões (equipamentos, instrumentos, drogas reagentes e o resto da parafernália). O que é mais importante? O que podem um sem o outro? Que os músculos sem cérebro possam fazer grande coisa é questão que se afasta de imediato. Mas pode o cérebro fazer algo sem os músculos? Ou dito melhor, sem os utensílios habituais? Um matemático sem lápis e papel no deserto Saara? Um biólogo molecular sem aparelhos na selva amazônica? Eis o desafio. Eis que excitou minhas meninges. E formulei, de saída, uma hipótese afirmativa. Melhor seria dizer, de entrada. Ao decidir vir para Rondônia, minha hipótese era de que o cérebro pode, mesmo quando perde músculos, inventar e criar novas parafernalias.”

(fragmentos de Crônicas subversivas de um cientista, de autoria de Hildebrando).

Luiz levava a imagem de nossa instituição para todo o planeta dessa forma, porque ele vivia e sentia a importância da instituição para a nossa região. Nesse mesmo livro, Luiz, o Prof. Hildebrando, sabia que estava ciente que não resolveria os problemas mundiais. No início, resolveria o problema de Portochuelo, uma comunidade de 40 habitantes. Mas sabia que a forma de intervenção, não apenas pela ciência, mas também pelo afeto ao próximo, ensinando ao próximo a dividir, se ajudar e a trabalhar, era o caminho para transformação. Aí sim se criássemos 40 mil Portochuelos começaria a surtir algum efeito. Luiz, buscou através do cérebro novos músculos. O que Luiz, o Prof. Hildebrando descobriu de verdade é que as células desse cérebro específico também podiam se dividir! Será que isso procede ou é mais um ato de viagem saudosa que faço adicionando um cálice de um bom Calvados em meio ao texto?

E, o que realmente temos no Ipepatro, hoje Fiocruz Rondônia, Cepem, Unir Saúde e Polo Tecnológico que alberga todas as instituições colaboradoras dessa missão? A resposta é tão clara quanto os céus de Rondônia: PESSOAS. Temos pessoas. Temos eu e você. Era em mim, em você que Luiz, o Prof Hildebrando acreditava. Não sei se a resposta era clara para o mestre no início. Mas, ele acreditou na melhor infraestrutura possível. Nas pessoas engajadas em mudar um paradigma regional. O que adiantariam os músculos, os aparelhos, drogas e reagentes no meio da selva amazônica se não tivesse o artista cientista artesão que transformasse o meio?

Luiz, o Prof. Hildebrando acreditava no poder de transformação que as pessoas podem fazer em todas as dimensões. Seja num paper publicado ou, na mais simples das funções. Acreditava no trabalho bem feito. Acreditava que o trabalho profissional vem do coração. Esse é o grande legado que fica do Luiz, o Prof Hildebrando para mim.

Para todos nós que conhecemos e bebemos da fonte do mestre, sabemos que Luiz daria como missão cumprida em Rondônia apenas quando ele mesmo tivesse a certeza de que todos nós estivéssemos preparados. Preparados para deixá-lo vivo em seu legado. Talvez hoje, neste diálogo franco com todos vocês, esteja eu, tendo o mesmo sentimento que Luiz, o Prof. Hildebrando, tivera nas decisões a tomar ou nos caminhos a escolher: “Quem entendia de índio era meu amigo Darcy Ribeiro. Podia bem ter perguntado, mas ele já se foi. Curioso como os amigos que já se foram nos fazem tanta falta. Quando estavam vivos pouco pensávamos neles. Agora, a cada questão sobre a qual necessito um conselho, uma opinião ou mesmo um mero palpite, penso num amigo que já se foi: Ele seria certamente capaz de me dar uma resposta.”\*

No último mês de abril, no mesmo sofá que me encontro agora, Hildebrando me contava que estava muito feliz em saber que o pessoal de Rondônia estava consolidado e estável e que ele queria voltar a pensar em plantar rosas em seu jardim na França. Dizia que queria plantar rosas, porque rosas lembrariam Cécile, sua esposa que estava o deixando aos poucos por causa de um câncer e, de um dos primeiros desafios que havia sofrido em Rondônia. Que foi o de tentar cultivar boas rosas em seu jardim. “Rosas em meio a tanta beleza natural que as florezinhas da biodiversidade da Amazônia podem me dar. Sou mesmo idealista comunista”, disse-me ele. Foi uma das primeiras vezes que não falamos de ciência em nossa roda de cachaça. Falamos da vida. O que realmente Luiz, agora o Luiz, falava nesse encontro, era mesmo de seus dois grandes amores Cécile e Rondônia. Nesse mesmo dia pude perceber que Luiz estava com a sensação da vida vivida, da missão cumprida. De tornar a ciência capaz de transformar o meio: “A luta contra a transformação da Ciência em atividade virtual que impeça que se torne para o comum dos mortais algo a contemplar nas transmissões de televisão das maravilhas que se passam “lá fora”, mas nunca “aqui onde se vive”. É com essa luta que me identifico. [] É por isso que voltei. Melhor dizer que é por isso que penso que voltei.”\*

A dúvida mencionada acima não existia mais nos dias atuais para Luiz, o Prof. Hildebrando e para Luiz, o Luiz, que sempre escreveu Ciência com letra C maiúscula em todos os seus manuscritos.

Agora que para mim a velhice também se anuncia, retorno ao ponto de partida. Portanto, às vezes eu me pergunto: não seria tudo isso apenas uma longa viagem de volta?\*

Para nós Luiz, o Prof. Hildebrando; Luiz, o Luiz, Luiz Hildebrando Pereira da Silva é o ponto de partida de nossa missão e de seu legado.

Vamos juntos saudar Prof. Hildebrando fazendo o que sabemos fazer. Ciência com o coração para algo útil.

Viva Luiz, o Prof. Hildebrando  
Viva Luiz  
Viva Luz, Luiz Hildebrando Pereira da Silva

“Coraggio, o Fuggiamo” – que tenhamos a coragem de seguir os seus caminhos

Jamais deixarei de lembrar de você, Luiz ao me deparar com uma linda rosa por esse mundo afora que te abrigou por tantas vezes.

Um abraço afetuoso em cada um de vocês do Rodrigo, o Rodrigo.

27 de setembro de 2014

(Citações do livro \*Crônicas subversivas de um cientista. Obra completa. 2012. Vieira e Lent Casa Editorial Ltda.)

# Combate sem trégua

*Luiz Hildebrando  
Pereira da Silva  
fez carreira no  
Instituto Pasteur  
e hoje é um dos  
responsáveis pela  
diminuição dos  
casos de malária  
em Rondônia*

---

**P**rimeiro ele virou comunista e, em decorrência, virou parasitologista. As duas escolhas pautaram, paradoxalmente, sua trajetória de vida: a primeira o expulsou do Brasil por duas vezes, nos anos 1960; e a segunda o trouxe de volta, mais de 30 anos depois.

Aos 85 anos, Luiz Hildebrando Pereira da Silva, diretor aposentado da Unidade de Parasitologia Experimental do Instituto Pasteur, na França, ainda divide sua agenda entre Paris e Porto Velho, onde dirige o Instituto de Patologias Tropicais de Rondônia (Ipepatro) e é vice-diretor de Pesquisa, Desenvolvimento Tecnológico, Inovação e Serviços de Referência da Fiocruz Rondônia. Mas conciliou suas escolhas: “Eu me identifico com o comunismo que defende os grandes ideais do Iluminismo: a liberdade, a igualdade e a fraternidade”.

Ao comunismo, ele chegou adolescente. Aos 15 anos, ingressou no Partido Comunista Brasileiro (PCB), inspirado pelo heroísmo do marechal Jukov e pelo “papel determinante” da União Soviética na luta contra o nazismo. À parasitologia, foi entronizado por Samuel Pessoa, também comunista, pioneiro nos estudos epidemiológicos em comunidades rurais brasileiras.

Recém-formado pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), em 1953, Luiz Hildebrando escapou da residência médica e embrenhou-se em Misericórdia de Piancó, no sertão da Paraíba, num programa de pesquisa sobre epidemiologia de doenças parasitárias dirigido por Pessoa. Foi lá que, através da lente de um





Acima, Luiz Hildebrando no jardim da casa de François Jacob (esq.), que dividiu o Nobel de Medicina de 1965 com Jacques Monod. Abaixo, no estande da Voz Operária jornal do PCB, na festa anual do diário comunista francês L'Humanité durante os anos 1970, em Paris

microscópio e à luz de gambiarra, viu o parasita *Schistosoma mansoni*, de alta incidência em áreas litorâneas do Nordeste, mas até então inédito no sertão. Sentiu, pela primeira vez, “a emoção estética da descoberta” e virou cientista.

Voltou à USP em 1956 como assistente da cadeira de parasitologia para estudar o ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. Inoculado pela inquietação científica – e, acidentalmente, também pelo parasita –, utilizou micromanipulação e técnicas de biologia para resolver uma suspeita que assaltava epidemiologistas desde Carlos Chagas: não havia sexualidade entre os *T. cruzi*.

O encanto pela genética foi reforçado em um curso em Piracicaba (SP), durante o qual conheceu o trabalho dos franceses François Jacob e Elie Wollman. Um ano depois de ter sido aprovado no concurso para livre-docente de parasitologia, em 1960, conseguiu uma bolsa do Conselho Nacional de Pesquisa Científica e Tecnológica (CNPq) para estágio de pós-doutorado, um ano na Universidade Livre, em Bruxelas, com René Thomas, no laboratório de Jean Brachet; um ano no Instituto Pasteur, em Paris, com François Jacob, no laboratório de André Lwoff. Em Bruxelas estudou a lisogenia dos bacteriófagos e, na França, a genética da lisogenia. Retornou à USP em 1963. Tentava organizar um laboratório de genética de microrganismos quando veio o golpe militar. Passou três meses preso no navio Raul Soares, denunciado por

recolher fundos e dar asilo a comunistas procurados. Acabou demitido por ato do governador Adhemar de Barros, em 9 de outubro de 1964, último dia da vigência do Ato Institucional nº 1. Voltou à França e, com o apoio de François Jacob, integrou-se ao Instituto Pasteur como assistente, ganhou posição de pesquisador no Centro Nacional de Pesquisa Científica (CNRS), mas não desistiu do que Lwoff dizia ser seu “primeiro amor”: o *T. cruzi*.

Quando o Itamaraty promoveu uma campanha de repatriamento de cientistas, em 1967, acreditou que a ditadura se esgotava. Aceitou organizar um curso no Departamento de Bioquímica da USP, em julho, e também o convite de José Moura Gonçalves, diretor da Faculdade de Medicina da USP em Ribeirão Preto, para o cargo de professor no Departamento de Genética. Chegou em junho de 1968, seis meses antes da edição do Ato Institucional nº 5, foi demitido em abril do ano seguinte e retornou à França.

Em Paris, reassumiu sua posição no CNRS e seu posto no Pasteur. Por ter aceitado emprego em um governo estrangeiro sem a autorização da Presidência da República, prevista na Constituição de 1967, foi alvo de processo para perda de nacionalidade. Ficou três anos sem passaporte. Foi um longo período de exílio, durante o qual virou referência intelectual dos exilados brasileiros – comunistas e não comunistas – na França, no cargo de secretário político da base do PCB em Paris. No Pasteur, a pesquisa em biologia molecular avançava a passos largos: Jacob acabara de ganhar, junto com Jacques Monod, o Prêmio Nobel de





Medicina de 1965, com o modelo de regulação da expressão gênica em

Paulo. Todos se mostraram dispostos a integrar o ICB, com exceção de Raw, que já se dedicava à produção de imunobiológicos no Instituto Butantan. O então reitor da USP, Waldir Muniz Oliva, no entanto, colocou objeções financeiras. No meio das negociações, Peixoto foi demitido do CNPq. E não se falou mais no assunto. A USP só reconheceria a injustiça das demissões da Faculdade de Medicina em 18 de setembro de 2008, quando conferiu a cada um deles – dois já haviam morrido – o título de professor emérito.

Nos 15 anos que antecederam sua aposentadoria no Instituto Pasteur, em 1996, Luiz Hildebrando consolidou sua pesquisa sobre a bioquímica e biologia molecular dos parasitas da malária, aplicações vacinais e epidemiologia da doença. Em 1990, em colaboração com Erney Camargo, organizou uma equipe de pesquisa em Rondônia. “Nos anos 1980/1990, em consequência de uma grande migração de sulistas patrocinada pelo regime militar, Rondônia tornou-se a região de maior incidência de malária no país”, lembra Camargo.

**A**posentado do Pasteur, Luiz Hildebrando decidiu aportar em Rondônia. Prestou

Luiz Hildebrando com morador de Porto Velho, em 2002: ações bem-sucedidas contra a malária



Acima, com o então presidente francês François Mitterrand na inauguração do prédio da Imunologia do Instituto Pasteur, em 1981. Ao lado, durante o primeiro estágio no Pasteur, em 1965

concurso na USP e, em 1997, foi nomeado titular de parasitologia e assumiu a direção dos programas em Rondônia. Instalou-se em Porto Velho, montou o Centro de Medicina Tropical (Cepem) na Secretaria da Saúde de Rondônia e criou o Ipepatro, com um grupo de médicos e biólogos. Em pouco tempo, verificou que as vítimas assintomáticas do *Plasmodium vivax* podiam transmitir a doença. O artigo “*Asymptomatic infections by Plasmodium vivax in a native Amazonian population*” foi publicado na revista *Lancet*, em 1999.

Em 2010, no artigo “The dynamics of transmission and spatial distribution of malaria in riverside areas of Porto Velho, Rondônia, in the Amazon region of Brazil”, publicado na *PLoS One*, constatou que, apesar de a transmissão poder ocorrer intra e extradomicílio, a manutenção da malária nas áreas endêmicas era essencialmente dependente da transmissão intradomiciliar, reforçada pela presença das fontes de infecção permanente (assintomáticos). E que a mobilidade das populações amazônicas é fator essencial da difusão e extensão da endemia da malária.

Desde então, a equipe do Cepem vem registrando sucesso com o procedimento SIPT (*selective intermittent preventive treatment*), que visa ao controle de recaídas do *P. vivax*. A área-piloto, Candeias do Jamari, é a única cidade no estado que, em 2010/11, apresentava um API (annual parasite incidence) superior a 200 e alta incidência do *P. vivax*, devido essencialmente às recaídas. “Com apoio da Secretaria da Saúde do ministério, a API caiu significativamente



para 82 em 2013”, ele conta.

Essas ações já impactam as estatísticas. Em 2011, os registros de malária na região amazônica tinham caído de 600 mil, em 1999, para 300 mil. No mesmo período, a participação de Rondônia nesse total caíra ainda mais, de 40% em 1999 para 12% em 2011. E a incidência continua em queda.

Em 2013 foram registrados 168 mil casos na Amazônia e em Rondônia com baixa acentuada: 7% do total, com menos de 14 mil casos. “O mais importante é que em Rondônia está-se verificando queda não apenas do *P. falciparum*, mas também do *P. vivax*”, comemora Luiz Hildebrando.

As perspectivas são ainda mais promissoras com os resultados de ensaios clínicos com a Tafenoquina, uma nova quinolina produzida pelo laboratório multinacional GSK, em dose única, contra as formas hepáticas de *P. vivax*. “Se o ensaio for positivo, poderemos melhorar a prevenção das recaídas de malária *vivax*, pois o método SIPT exige tratamento preventivo por várias semanas, usando a cloroquina”, conta Luiz Hildebrando. “A expectativa é que a campanha contra a malária, que se mantinha apenas em controle, possa evoluir, brevemente, se não para uma erradicação, ao menos para uma eliminação.”

A equipe registra progressos também no desenvolvimento de



biotecnologias aplicadas à saúde, principalmente com a produção de anticorpos monoclonais originados em camelídeos (alpacas e lhamas de Rondônia), clonando o segmento ativo do anticorpo. “O anticorpo VHH é sintetizado e expresso pela *E. coli* transgênica. Nossa equipe foi bem-sucedida na preparação do VHH contra a enzima fosfolipase das serpentes *Bothrops* e *Crotalus*. Já foram isolados e caracterizados cerca de 20 VHH, cujas sequências foram determinadas e, algumas, patenteadas”, explica. Há bons resultados também com a tecnologia de isolamento e produção de VHH, que reage com antígenos da superfície viral, em particular de hantavírus, e dos vírus da febre amarela e da raiva.

## Números de casos de malária na região amazônica continua caindo



Com Cecile, atual esposa, filhos, noras e netos reunidos em Paris, em 2010

## ENSINO, FORMAÇÃO AVANÇADA, INFORMAÇÃO E COMUNICAÇÃO

Com a perspectiva de contribuir para o desenvolvimento, valorização e redução das assimetrias em Ciência, Tecnologia e Inovação (CT&I) na Amazônia, particularmente em Rondônia, a Fiocruz, em colaboração com outras instituições: Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, Instituto de Pesquisa em Patologias Tropicais, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Secretaria de Estado da Saúde de Rondônia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul e Embrapa, oferece cursos de pós-graduação lato e stricto sensu, ampliando a rede de formação e a fixação de docentes, pesquisadores e técnicos na região Norte do País. De forma paralela, a Instituição vem desenvolvendo ações focadas na inserção de alunos de graduação em Programas de Iniciação Científica e Tecnológica (PIBIC/PIBIT-CNPq) e organizando eventos científicos visando debater e difundir experiências e conhecimentos relacionados às diferentes temáticas institucionais.

### FORMAÇÃO STRICTO SENSU

#### Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental (PGBIOEXP)

O PGBIOEXP, instituído pela Universidade Federal de Rondônia (UNIR) em 1999, Mestrado, e recomendado pelo CT/CAPES em 2005, Doutorado, é um programa de natureza multidisciplinar focado nas relações patógenos/hospedeiros que busca gerar conhecimento sobre patologias infecciosas e parasitárias da Amazônia, bem como desenvolver biotecnologias aplicadas às patologias infecto-contagiosas da região. Em cooperação com a Fiocruz Rondônia, o programa conta com a participação de 22 docentes (UNIR e Fiocruz), 33 alunos de mestrado e 25 de doutorado. Ao longo dos seus 14 anos foram titulados 139 Mestres e 26 Doutores. No biênio 2013-2014, o Programa formou 12 Doutores e 18 Mestres. Abaixo, estão enumeradas as teses de doutorado e dissertações de mestrados concluídas.

#### Teses de Doutorado Defendidas

##### 2013

- 01 ANTONIO COUTINHO NETO. Variação ontogenética do veneno de *Bothrops atrox* pela análise proteômica e peptidômica: Identificação e caracterização de peptídeos potencializadores de bradicinina. Orientador: Rodrigo Guerino Stábeli.
- 02 CÉSAR LUIZ DA SILVA GUIMARÃES. Inibidores naturais contra toxinas e venenos de serpentes brasileiras: Busca de terapias alternativas ao envenenamento ofídico. Orientador: Rodrigo Guerino Stábeli.
- 03 MAÍSA DA SILVA ARAÚJO. Estudo da malária de primatas não humanos e sua relação com a malária humana no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. Orientador: Luiz Hildebrando Pereira da Silva.
- 04 MARLENE GUIMARÃES SANTOS. Rastreamento de alelos do gene CFTR em Porto Velho, Amazônia Ocidental Brasileira. Orientador: Vera Engracia Gama de Oliveira.
- 05 RAMÓN NÚÑEZ CÁRDENAS. Efeitos da malária no desempenho de atletas de Porto Velho. Orientador: Rodrigo Guerino Stábeli.
- 06 FERNANDA BAY HURTADO. Contribuição ao estudo fitoquímico e atividade biológica da entrecasca de *Maytenus guianensis* Klotzsch ex Reissek (Celastraceae). Orientador: Valdir Alves Facundo.
- 07 CESARINO JUNIOR LIMA APRIGIO. Caracterização das espécies de *Leishmania* em amostras biológicas de pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana e da fauna flebotômica de três municípios do estado de Rondônia. Orientador: Izaltina Silva Jardim.
- 08 ANDERSON MAKOTO KAYANO. BbMP-1, uma metaloproteinase do veneno da serpente *Bothrops brazili*: aspectos funcionais estruturais. Orientador: Rodrigo Guerino Stábeli.
- 09 SORAYA DOS SANOS PEREIRA. Seleção e Caracterização de Nanocorpos de Camelídeos Contra o Antígeno Recombinante do Segmento-S de Hantavírus, Cepa Araucária: Um Protótipo para Diagnóstico Alternativo de Infecções por Hantavírus. Orientador: Rodrigo Guerino Stábeli, Co-Orientadora: Carla Freire Celedônio Fernandes.

#### Dissertações de Mestrado Defendidas

##### 2013

- 01 ALLISON CARLOS ASSUNÇÃO SILVA. Associação de polimorfismos da glutatona s-transferase (GSTM1\*0 e GSTT1\*0) com tuberculose. Orientador: Rubiani de Cassia Pagotto.
- 02 ANDRÉA AUGSBURGER DE MOURA. Isolamento e caracterização bioquímica de fosfolipases A2 miotóxicas do veneno de *Bothrops mattogrossensis* com atividade de antileishmania e antitumoral. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 03 DANIELE SIMONE DANTAS DA SILVA. Associação de polimorfismos da enzima conversora de angiotensina e enzima sintetase do óxido nítrico em pacientes com tuberculose no Município de Porto Velho (RO). Orientador: Rubiani de Cassia Pagotto.

- 04 GIZELI SILVA GIMENEZ. Caracterização bioquímica e toxicológica do veneno da aranha *Parawixia bistrriata*: isolamento de uma enzima proteolítica. Orientador: Rodrigo Guerino Stábéli.
- 05 LILIAN MOTA CANTANHEDE. Detecção de Leishmania vírus em amostras de pacientes com leishmaniose tegumentar americana atendidos no Centro de Medicina Tropical de Rondônia-CEMETRON. Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.
- 06 NIDIANE DANTAS REIS PRADO. Produção e caracterização parcial de nanocorpos de *Lama glama* (VHH) ativos contra toxinas da serpente *Bothrops jararacussu*. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 07 RAFAELA DINIZ SOUSA. Caracterização bioquímica e funcional dos componentes do veneno da vespa social *Polybia occidentalis*: identificação de fosfolipases enzimaticamente ativas. Orientador: Rodrigo Guerino Stábéli.
- 08 CARINA GODOI PICELLI. Prospecção molecular de inibidores naturais de fosfolipases A2 e caracterização bioquímica de veneno em serpentes amazônicas: *Micrurus lemniscatus*, *Bothrops atrox* e *Bothrops bilineata*. Orientador: Rodrigo Guerino Stábéli.
- 09 ONÁSSIS BOERI DE CASTRO. Estudo dos mecanismos envolvidos na inibição da proliferação de mononucleares do sangue periférico humanos induzida pela lectina bjc1 isolada do veneno de *Bothrops jararacuçu*. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.
- 10 JOSÉ RONIELE DO NASCIMENTO MONTEIRO. Isolamento e caracterização de uma nova família de peptídeos de sementes de *Inga edulis*. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 11 RENATA SANTOS RODRIGUES. Caracterização das cepas de *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) típica e atípica isoladas de crianças com gastroenterite aguda na Região de Porto Velho-R. Orientador: Najla Benevides Matos.

### Teses de Doutorado Defendidas

#### 2014

- 01 LEANDRO SOARES MOREIRA. Estudo da inibição da interação molecular entre enolase de *P. falciparum* e a proteína ligante a enolase (EBP) do vetor *Anopheles darlingi*. Orientador: Rodrigo Guerino Stábéli.
- 02 SULAMITA DA SILVA SETUBAL. Papel dos neutrófilos na resposta inflamatória induzida pelo veneno de *Bothrops bilineata* e por FLA2 Asp-49 isolada do veneno da serpente *Bothrops atrox*. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.
- 03 RUDSON DE JESUS HOLANDA. Fosforilase de nucleosídeos prurínicos pnp (ec 2.4.2.1) de *plasmodium falciparum* como modelo para busca de novo inibidores. Orientador: Luiz Hildebrando Pereira da Silva.

### Dissertações de Mestrado Defendidas

#### 2014

- 01 SHARON ROSE ARAGAO MACEDO. Micropartículas funcionalizadas com toxinas isoladas de *Crotalus durissus terrificus* como terapia experimental na leishmaniose cutânea. Orientador: Roberto Nicolete.
- 02 LEDA FABIELEN TEIXEIRA. Efeitos locais e sistêmicos de BdiPTX-I, uma nova fosfolipase A2 Lys-49 isolada do veneno da serpente *Bothrops diporus*. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.
- 03 JULIANA CONCEICAO SOBRINHO. Isolamento e caracterização bioquímica e estrutural de fosfolipases a2 ácidas do veneno da serpente *Bothrops brazili*. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 04 LUIS ANTONIO DA SILVA. Caracterização das cepas de *Escherichia coli enteroagregativas* (EAEC) isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho-RO. Orientador: Najla Benevides Matos.
- 05 IASMIN FERREIRA PIMENTEL. Infecção natural por *Plasmodium spp.* em *Anopheles spp.* capturados nas áreas de influência direta da Usina Hidrelétrica de Jirau em Rondônia. Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.
- 06 MICHELE PEREIRA DA SILVA. Caracterização parcial de nanocorpos ativos contra toxinas isoladas de veneno de *Bothrops jararacuçu*. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 07 LETICIA HELENA DE CARVALHO. Estudo comparativo dos efeitos locais e sistêmicos dos venenos de serpentes *Crotalus durissus collineatus*, *Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus cascavella*. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.
- 08 LUAN FELIPO BOTELHO SOUZA. Análise molecular do vírus da hepatite Delta através da técnica de PCR em tempo real e convencional. Orientador: Deusilene Souza Vieira
- 09 LEANDRO FLORES DO NASCIMENTO. Efeito antinociceptivo do óleo essencial de *Piper aleyreanum* C. DC. (Piperaceae) na hiperalgesia induzida pelo veneno da serpente *Bothrops jararaca* (Viperida). Orientador: Valdir Alves Facundo.

## Programa de Pós-Graduação da REDE BIONORTE

Baseado na tríade biodiversidade, biotecnologia e conservação, o Programa de Pós-Graduação stricto sensu, nível doutorado, da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, instituída em 2008 pelo Ministério da CT&I, conta com caráter interdisciplinar e multi-institucional. Atualmente a Rede BIONORTE congrega mais de 100 pesquisadores de 31 instituições de ensino e pesquisa de nove estados brasileiros da Amazônia Legal. Em Rondônia, a coordenação estadual vem sendo realizada pela Embrapa. Entre os 22 pesquisadores que compõem o quadro de docentes do Programa na região, 09 são vinculados a Fiocruz Rondônia. Entre os 24 discentes do Programa, 12 (06 bolsistas CAPES) estão sob orientação de pesquisadores da Fiocruz RO. De forma a permitir o intercâmbio de informações e ampla difusão do conhecimento, o Programa da Rede vem oferecendo aos discentes, além das disciplinas presenciais, aulas transmitidas online por web Conferências (de forma presencial em cada Colegiado Estadual).

### Formação Lato Sensu

Fruto de uma parceria entre a Fiocruz (Mato Grosso do Sul e Rondônia), Secretaria de Estado da Saúde de Rondônia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Fundação Universidade Federal de Rondônia (UNIR) e apoio da Universidade Aberta do SUS (UNA SUS)/SGETES/MS, estamos viabilizando o Curso de Pós-Graduação em Atenção Primária em Saúde da Família. O Curso visa prioritariamente melhorar a qualificação dos profissionais de nível superior que atuam na Estratégia Saúde da Família de Rondônia. Entre os objetivos específicos da especialização lato sensu estão: Capacitar os membros das ESF (Equipes de Saúde da Família) para trato e soluções dos problemas mais frequentes dos seus clientes; Melhorar a relação entre ESF e usuários; Propiciar intercâmbio de experiências entre os profissionais das ESF; Melhorar a integração das ESF com a comunidade e com os demais níveis de saúde local; Capacitar os profissionais para que adquiram competências e habilidades para participar da formação de novos profissionais de saúde; Prover ferramentas aos profissionais das ESF para cumprir as metas do Ministério da Saúde e de Rondônia; Formar os profissionais para que possam elaborar estratégias à promoção, prevenção, recuperação e reabilitação da saúde do indivíduo, família e comunidade; Estimular a prática de planejamento, análise e avaliação das informações produzidas, a fim de traçar as metas de atuação das ESF; Gerenciar o serviço da equipe e aplicar a epidemiologia para nortear a prática diária da equipe.

Entre as atividades desenvolvidas estão o Curso de Capacitação de Tutores e o I Encontro Presencial com os profissionais selecionados.

Período	Evento	Público-Alvo	Local	Quantidade
06 e 07/07/2014	I Capacitação de Tutores - Curso de Especialização em Atenção Primária em Saúde da Família	Tutores selecionados	LACEN (Laboratório Central)	20
26 e 27/07/2014	II Capacitação de Tutores - Curso de Especialização em Atenção Primária em Saúde da Família	Tutores selecionados	UNIR	20
18 e 19/07/2014	III Capacitação de Tutores - Curso de Especialização em Atenção Primária em Saúde da Família	Tutores selecionados	UNIR	20
15/08/2014	I Encontro Presencial - Curso de Especialização em Atenção Primária em Saúde da Família	Profissionais de nível superior	UNIR	137

### Iniciação Científica e Tecnológica

Como forma de inserir estudantes de graduação no meio científico e tecnológico, a Fiocruz Rondônia, desde 2012, vem participando efetivamente dos processos seletivos do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) e Programa Institucional de Bolsas em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (PIBIT-Fiocruz). A instituição oferece ainda, em parceria com o Centro de Integração Empresa-Escola (CIEE), oportunidades de estágio para graduandos da área da saúde e afins. Além dos relatórios anuais, os trabalhos dos discentes são avaliados durante as edições da Reunião Anual de Iniciação Científica (RAIC). Segue abaixo relação de orientadores, bolsistas e projetos vigentes entre agosto de 2013 e julho de 2014.

## PIBIC

Relação de pesquisadores, alunos e projetos envolvidos no programa PIBIC da Fiocruz Rondônia 2013-2014

Orientador (a)	Bolsista	Projeto
Alexandre de A. e Silva	Aline Adriolo	<i>Entomofauna da Reserva Ecológica do Cuniã, Rondônia</i>
Andreimar Martins Soares	Diana da Silva Butzke	<i>Avaliação do efeito antimicrobiano e candidacida de toxinas isoladas de venenos de serpentes</i>
	Marjorie Jessica Melo Nascimento	<i>Avaliação do efeito antimicrobiano e candidacida de toxinas isoladas de venenos de serpentes</i>
	Silvana Dantas da Silva	<i>Avaliação do efeito antimicrobiano e candidacida de toxinas isoladas de venenos de serpentes</i>
Carla Freire Celedônio Fernandes	Flávia Cristina Amaro Guerreiro	<i>Avaliação do efeito antimicrobiano e candidacida de toxinas isoladas de venenos de serpentes</i>
	Michelle Suellen da Silva Moraes	<i>Produção, purificação, caracterização físico-química e funcional de anticorpos tipos cadeias simples (VHH) contra epítomos dos vírus de febre amarela e raiva produzidos em Lama glama utilizando a técnica de phage display</i>
Deusilene Souza Vieira	Marta Gabriela Barbosa Sobreira Luz	<i>Produção, purificação, caracterização físico-química e funcional de anticorpos tipos cadeias simples (VHH) contra epítomos dos vírus de febre amarela e raiva produzidos em Lama glama utilizando a técnica de phage display</i>
	André Vyncius Cunha Pereira	<i>Hepatite B oculta: caracterização epidemiológica, clínica, laboratorial e molecular de indivíduos anti-HBC-total isolado no Estado de Rondônia.</i>
Genimar Rebouças Julião	Maiara Alves Boritza Jileade Das Virgens Santos	<i>Análise de resistência primária e secundária aos antivirais utilizados no tratamento da hepatite B em portadores crônicos</i>
	Phâmela de Souza Conciani Evangelista	<i>Monitoramento de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) através de armadilhas ovitrampas instaladas em nove bairros do município de Porto Velho, estado de Rondônia.</i>
Fernando Berton Zanchi	Marcus Vinícius Silva Romão	<i>Estudos in silico e in vitro para a identificação de novos inibidores de alvos enzimáticos de Plasmodium falciparum</i>
Jansen Fernandes Medeiros	Fábio Resadore	<i>Fauna de flebotomíneos (diptera:psychodidae) e infecção natural por leishmania spp. da área rural do município de Porto Velho, Rondônia, Brasil</i>
Juan Miguel Villalobos	Tatiane Patrício Oliveira	<i>Genotipagem dos polimorfismos do gene Il-28b em indivíduos portadores de hepatopatia crônica pelo vírus C</i>
Juliana Pavan Zuliani	Moisés Samuel Gonçalves Oliveira	
Leonardo de Azevedo Calderon	Jeise Gabriele Leal Vieira	<i>Isolamento e caracterização bioquímica de proteases e fosfolipases A2 do veneno de serpentes botrópicas</i>
	Wallace Henrique Reis Melo	<i>Isolamento e caracterização bioquímica de proteases e fosfolipases A2 do veneno de serpentes botrópicas</i>
Najla Benevides Matos	Aldilene Vieira de Albuquerque	<i>Caracterização etiológica e molecular dos enterovirus associados à gastroenterite em crianças de 0 a 6 anos de idade na região de Porto Velho-RO</i>
	Maria de Fátima Rodrigues Aguiar	<i>Caracterização etiológica e molecular dos enterovirus associados à gastroenterite em crianças de 0 a 6 anos de idade na região de Porto Velho-RO</i>
	Diones Gonçalves dos Santos	<i>Avaliação clínica e epidemiológica dos casos de acidentes ofídicos no Centro de Medicina Tropical (Cemetron) - RO</i>
Patrícia Soares de Maria Medeiros	Flávia Aparecida Menezes Carneiro	<i>Análise da bioatividade in vitro de extratos naturais contra Plasmodium falciparum</i>
	Ygor Riquelme Antunes	<i>Avaliação da bioatividade de extratos animais contra Plasmodium falciparum in vitro</i>
Quintino Moura Dias Júnior	Jessica Carolina Vaz dos Santos	<i>Avaliação do efeito antinociceptivo e antiinflamatório do veneno bruto de Rhaebo guttatus, Rhinella marina, Rhinella scneiderii e Rhinella fernandazeae em camundogos swiss</i>

Orientador (a)	Bolsista	Projeto
Ricardo de Godoi Mattos Ferreira	Kátia Paula Felipin	<i>Avaliação do comportamento clínico da leishmaniose tegumentar relacionada às espécies de leishmania spp. em Rondônia</i>
Roberto Nicolete	Amália dos Santos Ferreira Janaína Ferreira Brito	<i>Desenvolvimento, caracterização e avaliação biológica de nanopartículas funcionalizadas com bioativos de venenos de animais amazônicos para elaboração de protótipos de produtos para saúde humana</i> <i>Avaliação da ativação de macrófagos infectados com L.amazonensis incubados com lipossomas contendo lupano</i>
Vera Engracia Gama de Oliveira	Daniele Nakasono Gondim	<i>Genética da suscetibilidade em Aids: abordagem inicial da análise genômica nos sistemas PGM1, CCR5, CXCR4 e TLR4/9</i>
Weber Cheli Batista	Hecylana Oliveira Melo Angelina Moraes Silva	<i>Mapeamento de arboviroses do Estado de Rondônia</i> <i>Epidemia de dengue durante a cheia do Rio Madeira na cidade de Porto Velho</i>

## PIBIT

Relação de pesquisadores, alunos e projetos envolvidos no programa PIBITI da Fiocruz Rondônia no período 2013–2014.

Orientador (a)	Bolsista	Projeto
Ricardo de Godoi Mattos Ferreira	Ana Paula de Azevedo dos Santos	<i>Avaliação do comportamento clínico da leishmaniose tegumentar relacionada às espécies de leishmania spp. em Rondônia</i>
Carla Freire Celedônio Fernandes	Nauanny Karem Rodrigues de Lima Silva	<i>Nanocorpos de Camelídeos como Ferramenta de Diagnóstico ou Estratégia Farmacológica para Tratamento de Doenças Humanas</i>
Roberto Nicolete	Elisângela Santos Silva	<i>Avaliação imunológica de antígenos de leishmania amazonensis: biotecnologia para produção de protótipos vacinais baseados na micro/nanotecnologia</i>

## CIEE

Relação de pesquisadores, alunos e projetos envolvidos no Programa de Estágio CIEE – Fiocruz no período 2013–2014.

Orientador (a)	Bolsista	Projeto
Dhelio Batista Pereira	Ariane Pereira Damasceno Anauá Fernanda dos Santos Cavalcante	<i>Elaboração e Validação de Fluxograma de classificação de risco de malária vivax grave</i>
Juliana Pavan Zuliani	Jessica Felix	<i>Efeito da bth tx-1, uma fla2-lys49 isolada do veneno da serpente bothrops jararacussu, sobre a funcionabilidade de macrófagos peritoneais murinos.</i>
Patrícia Soares de Maria de Medeiros	Daniel Sol de Medeiros	<i>Análise da bioatividade de extratos naturais e compostos sintéticos contra plasmodium em sistemas in vitro e in vivo</i>
Weber Cheli Batista	Angélica de Medeiros Nunes	<i>Epidemiologia Molecular de arbovirus circulantes nas regiões de fronteira entre Guajará-Mirim e Guayaramerim</i>

### XXI REUNIÃO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

Realizada entre os dias 12 e 13 de setembro de 2013 no auditório da Embrapa Rondônia, a XXI Reunião Anual de Iniciação Científica proporcionou a exposição e discussão dos trabalhos de bolsistas de Iniciação Científica (IC) e Iniciação Tecnológica (IT), com vistas à análise do desenvolvimento dos projetos e ao intercâmbio de experiências entre estudantes e pesquisadores da Fiocruz Rondônia. A RAIC reforça a importância da iniciação científica e tecnológica na construção do conhecimento e fortalece a inserção dos alunos de graduação no meio científico. Além da participação de bolsistas e orientadores vinculados ao PIBIC, PIBIT e ao Centro de Integração Empresa escola (CIEE), contamos com a presença do Vice-Presidente de Pesquisa e Laboratórios de Referência da Fiocruz Rodrigo Stabeli, do Diretor da Fiocruz Rondônia Ricardo Godoi, Vice-Diretores da Fiocruz Rondônia Carla Celedônio e Quintino Dias, o Diretor da Embrapa Rondônia Cesar Teixeira e demais pesquisadores de ambas as Instituições.

#### COMISSÃO ORGANIZADORA

Carla Freire Celedônio Fernandes  
Nidiane Reis Prado  
Lilian Mota Cantanhede  
Marcos Barros Luiz  
Adriana da Silva Pontes  
Sulamita da Silva Setúbal  
Giovani da Silva Amaral  
Aline Franciele Schmitz  
Alexandre de Almeida Silva  
Maísa da Silva Araújo

#### COMISSÃO CIENTÍFICA

Andreimar Martins Soares – Fiocruz / Unir  
Carla Freire Celedônio Fernandes – Cepem / Fiocruz  
Cléber de Freitas Fernandes – Embrapa  
Deusilene Souza Vieira – Fiocruz  
Fábio Barbieri - Embrapa  
Fernando Berton Zanchi – Fiocruz  
Genimar Julião – Fiocruz  
Gisele Gonçalves – Fiocruz  
Janssem Medeiros – Fiocruz  
Joana D'Arc Neves Costa – Cepem/ Fiocruz  
Juliana Pavan Zuliani – Unir/ Fiocruz  
Leonardo de Azevedo Calderon – Unir/ Fiocruz  
Maísa da Silva Araújo – Fiocruz  
Quintino Moura Dias Júnior – Fiocruz  
Roberto Nicolete – Fiocruz  
Rodrigo Rocha - Embrapa  
Weber Cheli Batista – Fiocruz

**APOIO:** CNPq, Fiocruz, Embrapa

## PROGRAMAÇÃO CIENTÍFICA

### 12 DE SETEMBRO

#### CERIMÔNIA DE ABERTURA – 8h30min

#### SEÇÃO 1

**9h - ANDRÉ VINICIUS CUNHA PEREIRA** - Tema: Hepatite B oculta: caracterização epidemiológica, clínica, laboratorial e molecular de indivíduos anti-HBC-total isolado no Estado de Rondônia. Orientador: Deusiele Souza Vieira. Banca Examinadora: Carla Freire Celedônio, Roberto Nicolete, Gisele Gonçalves.

**9h30min - JILADE DAS VIRGENS SANTOS** - Tema: Análise de resistência primária e secundária aos antivirais utilizados no tratamento da hepatite B em portadores crônicos. Orientador: Deusiele Souza Vieira. Banca Examinadora: Carla Freire Celedônio, Roberto Nicolete, Gisele Gonçalves.

#### 10h - INTERVALO

**10h30min – MARTA GABRIELA B. S. LUZ** - Tema: Produção, purificação, caracterização físico-química e funcional de anticorpos tipos cadeias simples (VHH) contra epítomos dos vírus de febre amarela e raiva produzidos em Lama glama utilizando a técnica de Phage Display. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes. Banca Examinadora: Deusilene Souza Vieira, Roberto Nicolete e Gisele Gonçalves.

**11h - AMÁLIA DOS SANTOS FERREIRA** - Tema: Desenvolvimento, caracterização e avaliação biológica de nanopartículas funcionalizadas com bioativos de venenos de animais amazônicos para elaboração de protótipos de produtos para saúde humana. Orientador: Roberto Nicolete. Banca Examinadora: Deusilene Souza Vieira, Carla Freire Celedônio Fernandes e Gisele Gonçalves.

#### SEÇÃO 2

**14h30min - TATIANE PATRÍCIO OLIVEIRA** - Tema: Genotipagem dos polimorfismos do gene Il-28b em indivíduos portadores de hepatopatia crônica pelo vírus C. Orientador: Juan Miguel Villalobos Salcedo. Banca Examinadora: Maísa da Silva Araújo, Fernando Berton Zanchi e Cléberon de Freitas.

**15h - JÉSSICA CAROLINE VAZ DOS SANTOS** - Tema: Avaliação do efeito antinociceptivo e antiinflamatório do veneno bruto de *Rhaebo guttatus*, *Rhinella marina*, *Rhinella scneiderii* e *Rhinella fernandae* em camundogos swiss. Orientador: Quintino Moura Dias Júnior. Banca Examinadora: Maísa da Silva Araújo, Fernando Berton Zanchi e Cléberon de Freitas.

#### 15h30min - INTERVALO

**16h – FLÁVIA APARECIDA MENEZES CARNEIRO** - Tema: Análise da bioatividade *in vitro* de extratos naturais contra *Plasmodium falciparum*. Orientador: Patrícia Soares de Maria Medeiros. Banca Examinadora: Maísa da Silva Araújo, Quintino Moura Dias Júnior e Cléberon de Freitas.

**16h30min - ANA PAULA DE AZEVEDO DOS SANTOS** - Tema: Avaliação do comportamento clínico da leishmaniose tegumentar relacionada às espécies de *leishmania spp.* em Rondônia. Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira. Banca Examinadora: Maísa da Silva Araújo, Quintino Moura Dias Júnior e Cléberon de Freitas.

### 13 DE SETEMBRO

#### SEÇÃO 3

**8h30min - ARIANE PEREIRA DAMASCENO** - Tema: Elaboração e Validação de Fluxograma de classificação de risco de malária vivax grave. Orientadora: Dhélio Batista Pereira. Banca Examinadora: Juliana Zuliani, Weber Cheli Batista e Rodrigo Rocha.

**9h - DANIEL SOL SOL DE MEDEIROS** - Tema: Análise de resistência primária e secundária aos antivirais utilizados no tratamento da hepatite B em portadores crônicos. Orientador: Patricia Soares de Maria Medeiros. Banca Examinadora: Juliana Zuliani, Weber Cheli Batista e Rodrigo Rocha.

#### 9h30min - INTERVALO

**10h – ANGÉLICA DE MEDEIROS NUNES** - Tema: Epidemiologia Molecular de arbovirus circulantes na região de fronteira entre Guajará-Mirim e Guayaramerim. Orientador: Weber Cheli Batista. Banca Examinadora: Juliana Zuliani, Jansem Medeiros e Rodrigo Rocha.

**10h30min - JESSICA FELIX** - Tema: Efeito da BthTX I, uma fla2-lys49 isolada do veneno da serpente *Bothrops jararacussu*, sobre a funcionabilidade de macrófagos peritoneais murinos. Orientadora: Juliana Zuliani. Banca Examinadora: Weber Cheli Batista, Jansem Medeiros e Rodrigo Rocha.



## SEÇÃO 4

**13h30min - SILVANA DANTAS DA SILVA** - Tema: Avaliação do efeito antimicrobiano e candidacida de toxinas isoladas de venenos de serpentes. Orientador: Andreimar Martins Soares. Banca Examinadora: Joana D'Arc Neves Costa, Leonardo de Azevedo Calderon e Fábio Barbieri.

**14h - DIANA DA SILVA BUTZKE** - Tema: Avaliação do efeito antimicrobiano e candidacida de toxinas isoladas de venenos de serpentes. Orientador: Andreimar Martins Soares. Banca Examinadora: Joana D'Arc Neves Costa, Leonardo de Azevedo Calderon e Fábio Barbieri.

**14h30min – JEISE GABRIELE LEAL VIEIRA** - Tema: Isolamento e caracterização bioquímica de proteases e fosfolipases A2 do veneno de serpentes botrópicas. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon. Banca Examinadora: Genimar Julião, Andreimar Martins Soares e Fábio Barbieri.

**15h - INTERVALO**

**15h30min - DANIELE NAKASONO GONDIN** - Tema: Mapeamento de arboviroses do Estado de Rondônia. Orientador: Vera Engracia Gama de Oliveira. Banca Examinadora: Genimar Julião, Andreimar Martins Soares e Fábio Barbieri.

**17h - ENCERRAMENTO**

## PREMIAÇÃO

### Premiação Projetos novos - XXI RAIC (2013)

1º. Lugar ANA PAULA DE AZEVEDO DOS SANTOS. Avaliação do comportamento clínico da leishmaniose tegumentar relacionada às espécies de *Leishmania spp.* em Rondônia. **Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.**

2º. Lugar FLÁVIA APARECIDA MENEZES CARNEIRO. Análise da bioatividade in vitro de extratos naturais contra *Plasmodium falciparum*. **Orientador: Patrícia Soares de Maria de Medeiros.**

### Premiação – Projetos em andamento - XXI RAIC (2013)

1º. Lugar SILVANA DANTAS DA SILVA. Avaliação do efeito antimicrobiano e candidacida de toxinas isoladas de venenos de serpentes. **Orientador: Andreimar Martins Soares.**

2º. Lugar DIANA DA SILVA BUTZKE. Avaliação do efeito antimicrobiano e candidacida de toxinas isoladas de venenos de serpentes. **Orientador: Andreimar Martins Soares.**

**SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
I EXPOSIÇÃO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA E INOVAÇÃO DE RONDÔNIA**



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

Com o objetivo de apresentar a comunidade as iniciativas científicas e tecnológicas presentes no estado de Rondônia, o Governo do Estado, através da Secretaria de Estado do Planejamento e Coordenação Geral - SEPLAN, em parceria com a Fiocruz Rondônia, Centro de Pesquisa em Medicina Tropical (Cepem), SEBRAE, Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia – IDARON, EMBRAPA, Serviço Nacional de Aprendizagem em Rondônia – SENAI, Sistema de Proteção da Amazônia – SIPAM, Energia Santo Antônio, Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – SENAR, Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural – EMATER, CNPq e outras instituições organizaram a I Exposição de Ciência, Tecnologia e Inovação de Rondônia entre os dias 21 e 27 de outubro de 2013. Com a temática ciência, saúde e esporte, durante o período foram apresentadas atividades relacionadas a saúde, esporte, agricultura, meio ambiente, lazer, produtividade, entre outras, para a socialização do conhecimento científico e tecnológico gerado nas respectivas instituições. A Fiocruz Rondônia e o Cepem participaram do evento através de exposições de trabalhos científicos e realização de testes rápidos de doenças tropicais.

**ORGANIZADORES**

Carla Freire Celedônio Fernandes  
Caroline Bioni Garcia Teles

**PARTICIPAÇÃO**

<b>Aluno de Iniciação Científica</b>	<b>Orientador (a)</b>
Flávia Menezes	Patrícia Soares de Maria Medeiros
Jéssica Félix	Juliana Pavan Zuliani
Diana da Silva Butzke	Andreimar Martins Soares
Nucia Cristiane da Silva Lima	Najla Benevides Matos
Aline Adriolo	Alexandre de Almeida e Silva
Hevelin Sandeski	Alexandre de Almeida e Silva
Jéssica Araújo	Alexandre de Almeida e Silva
Fatia Felipin	Ricardo de Godoi Ferreira Mattos
Thaís	Alexandre de Almeida e Silva
Carla Ribeiro	Alexandre de Almeida e Silva
Ana Paula de Azevedo	Ricardo de Godoi Ferreira Mattos
Ariane Damasceno	Dhelio Batista Pereira
Anauá Cavalcante	Dhelio Batista Pereira
Raires Ferreira Rodrigues	Andreimar Martins Soares
Mauro Valentino Paloschi	Andreimar Martins Soares
Jileade das Virgens Santos	Deusilene Souza Vieira
Flávio Oliveira	Patrícia Soares de Maria Medeiros
Angélica Nunes	Weber Cheli Batista
Amália Ferreira	Roberto Nicolete
Marta Gabriela	Carla Freire Celedônio Fernandes
Tatiane Oliveira	Juan Miguel Villalobos Salcedo
André Vinicius Cunha	Deusilene Souza Vieira
Marjorie Jéssica	Andreimar Martins Soares
Silvana Dantas	Andreimar Martins Soares

**I SIMPÓSIO DE NANOBIOTECNOLOGIA DE RONDÔNIA  
II ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DE RONDÔNIA**



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/MEC), implementou a **REDE-NANOBIOTEC-BRASIL**, que objetivou apoiar projetos de implantação de Rede de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação, Cooperação Acadêmica e Acadêmica Empresarial no País, visando a formação de recursos humanos vinculada a projetos de CT&I.

Com o projeto intitulado "**Desenvolvimento nanobiotecnológico de produtos (prevenção, tratamento e diagnóstico) para o combate de doenças negligenciadas**", sob a coordenação geral do Prof. Dr. Rodrigo G. Stábili (Fiocruz Rondônia-IPEPATRO-UNIR), diversos pesquisadores nacionais, internacionais e do estado de Rondônia participaram na consolidação desta rede de pesquisa e implantação de intercâmbio para qualificação em técnicas avançadas em Nanobiotecnologia. Investindo na criação da área de concentração em Bioquímica e Biotecnologia na Pós-Graduação em Biologia Experimental (PGBIOEXP) da Universidade Federal de Rondônia (UNIR) e fortalecimento biotecnológico da Região Amazônica Ocidental e das Pós-Graduações envolvidas na rede.

Este 1º Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia associado ao 2º Encontro de Pós-Graduação em Saúde de Rondônia contou com a participação de palestrantes nacionais/internacionais, profissionais e acadêmicos em nível de graduação e pós-graduação atuantes nas áreas de Biotecnologia e Saúde.

**COMISSÃO ORGANIZADORA**

Andreimar Martins Soares, Fiocruz Rondônia (Coordenador)  
Carla Freire Celedônio Fernandes, Fiocruz Rondônia (Vice-Coordenadora)  
Alexandre de Almeida e Silva, UNIR, Fiocruz Rondônia  
Leonardo de Azevedo Calderon, UNIR, Fiocruz Rondônia  
Aline Schmitz, Fiocruz Rondônia  
Giovani Amaral, Fiocruz Rondônia  
Gilberto Penna, Fiocruz Rondônia

**COMISSÃO CIENTÍFICA**

Alexandre de Almeida e Silva, UNIR, Fiocruz Rondônia  
Deusilene Vieira, CEPEN, Fiocruz Rondônia  
Jansen Fernandes Medeiros, Fiocruz Rondônia  
Leonardo de Azevedo Calderon, UNIR, Fiocruz Rondônia  
Maísa da Silva Araújo, Fiocruz Rondônia  
Roberto Nicolete, Fiocruz Rondônia

**APOIO:** CAPES, FIOCRUZ, UNIR

## PROGRAMAÇÃO

### 22 DE OUTUBRO

#### CERIMÔNIA DE ABERTURA – 19h

**RODRIGO GUERINO STÁBELI** (Vice-Presidência de Pesquisa e Laboratórios de Referência da Fiocruz - VPPLR/RJ, Fiocruz Rondônia e UNIR),

**FRANCISCO ELDER SOUZA DE OLIVEIRA** (Presidente da Fundação Rondônia-FAPERO, representando o Governador do Estado de Rondônia)

**RICARDO DE GODOI MATTOS** (Diretor da Fiocruz Rondônia),

**LUIZ HILDEBRANDO PEREIRA DA SILVA** (Vice-Diretor de Pesquisa, Desenvolvimento Tecnológico, Inovação e Serviço de Referência da Fiocruz Rondônia e Professor Emérito da UNIR),

**ALEXANDRE DE ALMEIDA E SILVA** (Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Biologia Experimental, UNIR e Fiocruz Rondônia - representando a Reitora da UNIR)

**ANDREIMAR MARTINS SOARES** (Pesquisador Visitante da Fiocruz Rondônia e UNIR, Diretor Científico da FAPERO, Coordenador da Comissão Organizadora do Evento)

### 23 DE OUTUBRO

#### SEÇÃO 1 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTOS NÃO PROTÉICOS BIOATIVOS DE PLANTAS: BIOORGÂNICA E FITOQUÍMICA

**8h30min - ALEXANDRE JOSE MACEDO (UFRGS)** - Tema: Produtos naturais como estratégia para inibir a adesão bacteriana e formação de biofilmes patogênicos

**9h - ANDRÉ LOPES FULY (UFF)** - Tema: Potencial antibiofílico de moléculas de origem natural e sintético: utilização perspectivas biotecnológicas

**9h30min - INTERVALO**

**10h - RENE DE OLIVEIRA BELEBONI (UNAERP)** - Tema: Potencial Biotecnológico e caracterização neurobiológica de alcalóides isolados da planta *Erythrina mulungu mart. Ex benth*

**10h30min - VALDIR ALVES FACUNDO (UNIR)** - Tema: Princípios Ativos Isolados de Plantas medicinais do gênero Piper Nativas e Cultivadas no Estado de Rondônia

**12h - ALMOÇO**

#### SEÇÃO 2 - INTERAÇÃO DE MOLÉCULAS COM MODELOS DE MEMBRANA E ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE BIOMOLÉCULAS RELEVANTES DE PARASITAS.

**14h30min - ROSANGELA ITRI (USP)** - Tema: Interação de moléculas bioativas com membranas: Uma abordagem por vesículas gigantes e SAXS

**15h - LUIZ SHOZO OSAKI (Virginia Commonwealth University, USA)** - Tema: Bacteriófagos como ferramentas para o bloqueio do desenvolvimento e consequente transmissão de patógenos por inseto vetores

**15h30min - INTERVALO**

**16h - MARCELO SANTORO (UFMG)** - Tema: Evaluation and modeling of proton and water exchange associated with benzamidine and berenil binding to B-Trypsin

**16h30min - ALEXANDRE DE ALMEIDA E SILVA (UNIR-Fiocruz Rondônia)** - Tema: Manipulação do sistema imune do vetor da malária, *Anopheles darlingi*, para o bloqueio da transmissão por *Plasmodium vivax* usando RNAi: desafios e perspectivas

### 24 DE OUTUBRO

#### SEÇÃO 3 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS E PEPTÍDEOS DE VENENOS ANIMAIS COM FOCO NO DESENVOLVIMENTO DE IMUNOBIOLOGICOS

**8h30min - BENEDITO BARRAVIERA (UNESP)** - Tema: Medicina translacional: prospectando moléculas candidatas e propondo ensaios clínicos

**9h - CARLOS CHAVES-OLORTEGUI (UFMG)** - Tema: Identificação, síntese e caracterização de peptídeos antigênicos de venenos aracnídeo. Produção de anti-venenos vacinas e terapêuticos baseados em moléculas sintéticas

**9h30min - INTERVALO**

**10h - PAULO CÉSAR GOMES (UNESP)** - Tema: Relação estrutura-função do peptídeo paulistina: uma nova toxina do veneno da vespa social *Polybia paulista*

**10h30min - RUI SEABRA JR (UNESP)** - Tema: Ensaio clínico com o antiveneno apílico: um novo soro heterólogo específico para múltiplas picadas de abelhas africanizadas

**11h - MÁRCIA REGINA BROCHETTO BRAGA (UNESP)** - Tema: Alérgenos recombinantes para o diagnóstico e imunoterapia contra alergia ao veneno de Hymenoptera sociais

**12h - ALMOÇO**

**14h30min - AARÓN GÓMEZ ARGÜELLO (Universidad da Costa Rica, UCR)** - Tema: Cuando crecer nos cambia: el caso de *Crotalus simus simus*

**15h - CARLOS ÁLVAREZ (Universidad de Habana, Cuba)** - Tema: Sticholysins, Pore-forming Toxins from a Sea Anemone: Structure-function Studies as Platforms for Nanobiotech Applications

**15h30min – INTERVALO**

**16h – JULIANA SILVA CASSOLI (UFMG)** - Tema: Aplicação do proteoma de alto rendimento como ferramenta de investigação de novos peptídeos de venenos animais: uso de secreção de cnidários como modelo

**16h30min - CARLA F. FERNANDES (Fiocruz Rondônia)** - Tema: Nanocorpos de camelídeos como estratégia alternativa para o tratamento de envenenamento ofídico

**17h - LEONARDO A. CALDERON (UNIR - Fiocruz Rondônia)** - Tema: Banco de Venenos Animais. Desafios, oportunidades e perspectivas frente a regulamentação de acesso

**25 DE OUTUBRO**

**SEÇÃO 4 - MONTAGEM DE SISTEMAS NANOBIOMIMÉTICOS (LIPOSSOMAS, PROTEOLIPOSSOMAS) PARA MAXIMIZAR EFEITOS IMUNOMODULADORES OU VACINAIS, DISPERSÃO CONTROLADAS DE DROGAS: NANOBIOTECNOLOGIA E BIOTECNOLOGIA**

**8h30min - PIETRO CIANCAGLINI (USP)** - Tema: Nanobiotecnologia aplicada: uso de proteolipossomos

**9h - ANSELMO FORTUNATO RUIZ (UFAC)** - Tema: Desenvolvimento de medicamentos baseados em nanotecnologia

**9h30min - INTERVALO**

**10h - GERHARD WUNDERLICH (USP)** - Tema: Nanoparticle carrying merozoite antigens against blood stage forms of *P. falciparum* and *P. yoeli*

**10h30min - LUIZ ALBERTO KANIS (UNISUL)** - Tema: Encapsulação de extratos padronizados e seu efeito na atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

**11h - ROBERTO NICOLETE (Fiocruz Rondônia)** - Tema: Aplicação de lipossomas e partículas poliméricas na terapia alternativa contra leishmaniose cutânea

**12h – ALMOÇO**

**14h30min – SPARTACO ASTOLFI FILHO (UFAM)** - Tema: Desenvolvimento da biotecnologia farmacêutica industrial no Brasil

**15h30min – Mesa Redonda sobre Pós-Graduação em Saúde**

**17h – Apresentação de trabalhos científicos**

**19h – Encerramento**

**PREMIAÇÕES II ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE**

**Premiação – Apresentação de Banner**

- 1º. Lugar** SILVANA DANTAS DA SILVA. Isolamento e caracterização bioquímica de uma l-aminoácido oxidase do veneno de *calloselasma rhodostoma* e avaliação da sua ação antitumoral, antiparasitária e bactericida. Orientador: Andreimar Martins Soares.  
KAYENA DELAIX ZAQUEO. Isolation and partial characterization of a new serineprotease from *Bothrops brazili* snake venom. Orientador: Rodrigo Guerino Stabeli.
- 2º. Lugar** DIANA DA SILVA BUTZKE. Novas abordagens na interação molecular entre intercro e crotapotina por ressonância plasmônica de superfície - rps. Orientador: Andreimar Martins Soares.  
MARCOS BARROS LUZ. Nanobodies of camelid assets against crotoxin, a neurotoxin of the snake *crotalus durissus terrificus*. Orientador: Carla Freire Celedonio Fernandes.  
LILIAN MOTA CANTANHÊDE. Leishmania species identification and Leishmanivirus detection on clinical samples from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis patients in Rondonia, Western Amazonian region. Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.  
CLEOPATRA ALVES DA SILVA CALDEIRA. Purification and partial characterization of a protein from amazon *bothrops atrox* snake venom with affinity to chymotrypsin. Orientador: Andreimar Martins Soares.

## CURSO DE CINÉTICA ENZIMÁTICA



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

A Fiocruz Rondônia realizou nos dias 28 e 29 o Minicurso de Cinética Enzimática, no Auditório do Acordes Hotel, em Porto Velho. O curso foi ministrado pelo professor associado 4 da UFMG (Universidade Federal de Minas Gerais), Marcelo Matos Santoro.

Marcelo Matos Santoro possui graduação em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Federal de Minas Gerais (1974) e doutorado em Bioquímica e Imunologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (1983).

Marcelo foi professor associado 4 da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e Bolsista de Produtividade em Pesquisa nível 1D do CNPq. Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Proteínas, atuando principalmente nos seguintes temas: tripsina, estabilidade termodinâmica de proteínas, purificação de proteínas, calorimetria e estabilidade de proteínas.

## EVENTOS EM 2014

### AULA INAUGURAL DO CURSO EM ATENÇÃO PRIMÁRIA EM SAÚDE DA FAMÍLIA É MINISTRADA NO SENAC



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

O Governo de Rondônia, em parceria com a Universidade do Mato Grosso do Sul (UFMS), Fiocruz (unidades do Mato Grosso do Sul e Rondônia), Universidade Federal de Rondônia (Unir) e Universidade Aberta do SUS (UNA-SUS)/SGTES/MS, promoveu na noite da última sexta-feira (15) a Aula Inaugural do curso de Especialização em Atenção Primária em Saúde da Família, no auditório do Senac Rondônia, em Porto Velho.

A cerimônia de abertura do evento contou com a apresentação do coral da Embrapa Rondônia que interpretou músicas do cancionário popular e uma de origem africana. Em seguida, a solenidade foi conduzida com a composição de mesa, contando com a presença do Vice-presidente de Pesquisa e Laboratórios de Referência da Fiocruz, Rodrigo Stabeli; do Diretor da Fiocruz Rondônia, Ricardo de Godoi Mattos Ferreira; do Secretário de Estado da Saúde (Sesau), Williames Pimentel; da reitora da Universidade Federal de Rondônia (Unir), Berenice Tourinho; e do representante da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Cristiano Argemon Vieira.

O diretor da Fiocruz Rondônia, Ricardo Ferreira, ressaltou a troca de experiências que está sendo proporcionada entre as instituições em prol da saúde em Rondônia. “É uma troca de experiência efetiva para aprimorar a qualidade do atendimento na área de saúde”, frisou o diretor. Para a reitora da Unir, Berenice Tourinho, a cooperação entre as instituições é essencial para o sucesso do curso.

Para o Vice-presidente de Pesquisa e Laboratórios de Referência da Fiocruz, Rodrigo Stabeli, uma boa saúde passa por uma educação continuada. “É trabalhar para a melhor saúde em várias mãos. O desenvolvimento passa pela colaboração entre as instituições”, destacou Rodrigo. Já o secretário da Sesau, Williames Pimentel, destacou o trabalho árduo entre as instituições para a concretização do curso de especialização. “É uma escolha que nos enriquece dentro do quadro atual que vivemos em nosso estado e a estratégia depende do nível de fortalecimento da atenção básica”, afirmou o secretário.

Na sequência, o professor da Universidade Federal de Rondônia (Unir), Ari Miguel Teixeira Ott, ministrou a aula inaugural do curso com o tema: “Sobre o ensinar na presença e o aprender a distância” para os presentes, destacando as formas e ferramentas de aprender através da Educação a Distância. Ari Ott possui graduação em Medicina pela Universidade Federal da Bahia (1978), mestrado em Antropologia pela Universidade de Brasília (1982) e doutorado Interdisciplinar em Ciências Humanas pela Universidade Federal de Santa Catarina (2002).

## I CURSO DE BIOSSEGURANÇA

Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia



**Data do evento: 14.07.2014**

**Parceria: Embrapa RO**

**Público alvo: Pesquisadores, Alunos de graduação e pós-graduação**

**Local: Embrapa RO**

**Participantes: 60**

Define-se biossegurança como, 'o conjunto de saberes direcionados para ações de prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, as quais possam comprometer a saúde do homem, dos animais, das plantas e do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos' (FIOCRUZ, 2005). Dessa forma, a capacitação continuada nas diversas disciplinas envolvidas na promoção da biossegurança é uma atividade indicada e necessária para que tenhamos um ambiente de trabalho saudável, seguro e de baixo risco para todos aqueles envolvidos em atividades laboratoriais e de campo.

Na atualidade é cada vez mais frequente e necessária a manipulação de microorganismos, animais laboratoriais, amostras clínicas e organismos geneticamente modificados (OGMs), a qual obedece a regulamentações nacionais e internacionais, já que riscos potenciais e efetivos estão envolvidos na realização dessas práticas. A realização do 1º Curso de Biossegurança realizado através de uma parceria institucional entre a Embrapa Rondônia e a Fiocruz Rondônia visa contribuir na capacitação de pesquisadores, analistas e estudantes que realizam atividades de pesquisa que envolvam a manipulação e uso de agentes biológicos e OGMs, afim de que se consolide a cultura da biossegurança nessas instituições.

O curso aconteceu no dia 14 de julho de 2014 no auditório da Embrapa Rondônia e abordou temas que visam apresentar o arcabouço legal nacional direcionado a manipulação de OGMs, assim como apresentará as funções inerentes às Comissões Internas de Biossegurança da Embrapa Rondônia e da Fiocruz Rondônia e princípios de Boas Práticas Laboratoriais (BPL) que necessitam ser observados na rotina de laboratórios e atividades de campo que utilizam agentes biológicos e OGMs.

### **PROGRAMAÇÃO**

O curso será ministrado por profissionais da Embrapa Rondônia e da Fiocruz Rondônia que apresentarão os seguintes temas:

- (1) Legislação pertinente as atividades com utilização de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) e seus derivados (14h15min – 15h)
- (2) Regimento da Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) e Trâmite de Submissão de projetos (15h – 15h45min)
- (3) Boas Práticas Laboratoriais (BPL) (16h – 16h45min)
- (4) Implicações da implantação do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) (16h45 – 17h30min)



## II CURSO DE BIOSSEGURANÇA



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

**Data do evento: 30.10.2014**

**Parceria: Embrapa RO**

**Público alvo: Pesquisadores, Alunos de graduação e pós-graduação**

**Local: Embrapa RO**

**Participantes: 60**

Com o intuito de consolidar a cultura da biossegurança, a Fiocruz Rondônia e a Embrapa Rondônia promovem no próximo dia 30 de julho a 2ª Chamada do Curso de Biossegurança, no auditório da Embrapa em Porto Velho. O evento é uma parceria institucional que visa contribuir na capacitação de pesquisadores, analistas e estudantes que realizam atividades de pesquisa que envolvam a manipulação e uso de agentes biológicos e organismos geneticamente modificados.

Após o sucesso da primeira edição realizada no mês de julho deste ano, a Fiocruz Rondônia e a Embrapa Rondônia optaram pela realização de mais um curso no ano. O evento busca difundir o conjunto de saberes direcionados para ações de prevenção, minimizando ou eliminando riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, que possam comprometer a saúde do homem, dos animais, das plantas e do meio ambiente.

Poderão participar do curso os seguintes profissionais: bolsistas, estagiários, pesquisadores e analistas que trabalham em laboratórios e campos experimentais.

### **PROGRAMAÇÃO**

O curso será ministrado por profissionais da Embrapa Rondônia e da Fiocruz Rondônia que apresentarão os seguintes temas:

- (1) Legislação pertinente as atividades com utilização de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) e seus derivados (14h15min – 15h)
- (2) Regimento da Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) e Trâmite de Submissão de projetos (15h – 15h45min)
- (3) Boas Práticas Laboratoriais (BPL) (16h – 16h45min)
- (4) Implicações da implantação do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) (16h45min – 17h30min)

## I CURSO DE VERÃO AMAZÔNICO



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

O I Curso de Verão Amazônico discutiu assuntos relevantes relacionados à área de pesquisa em saúde no Brasil, com ênfase em métodos e técnicas utilizadas para o estudo, prevenção e controle de doenças tropicais.

O evento visa apresentar as metodologias utilizadas na pesquisa básica, conceituando e contextualizando os diferentes assuntos frente a sua importância para a saúde no Brasil. O curso contará com a participação das equipes da Fiocruz Rondônia, Centro de Pesquisa em Medicina Tropical (CEPEM), além do Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas a Saúde (CeBio) e Laboratório de Bioecologia de Insetos (LaBein) da Universidade Federal de Rondônia.

O Curso de Verão Amazônico será realizado durante uma semana, com carga horária de 40h. As aulas serão ministradas por alunos de pós-graduação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental, Programa de Pós-Graduação da Rede Bionorte ou vinculados as Instituições.

As atividades teóricas e práticas foram realizadas nas dependências da Fiocruz Rondônia, CEPEM, CeBio e LaBein, sendo de responsabilidade dos candidatos os custos com alimentação e transporte.

Foram fornecidos material didático e equipamentos de proteção individual a serem utilizados nas aulas práticas. Os alunos compareceram às atividades devidamente trajados (calça tipo jeans, tênis ou sapato completamente fechado, jaleco de manga longa).

## PROGRAMAÇÃO

Data	Horário	Atividade	Instrutor
08/09/2014	8h às 8h50min	Entrega de material aos alunos	---
08/09/2014	9h às 9h50min	Apresentação do curso	Carla Celedonio
08/09/2014	10 às 12h	Aula de biossegurança e vidrarias	Felipe Stegun
12/09/2014	14 às 18h	Encerramento: Atividade de fechamento	Coordenação

As aulas teóricas e práticas seguirão o cronograma de cada curso, conforme abaixo:

### MICROBIOLOGIA

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Generalidade bacteriana e mecanismo de patogenicidade	Najla Benevides Matos
09/09/2014	Manhã Tarde	Meio de cultura e principais formas e estruturas bacterianas Isolamento bacteriano	José Ribeiro e Nucia Cristiane da Silva Lima José Ribeiro e Nucia Cristiane da Silva Lima
10/09/2014	Manhã Tarde	Identificação de cocos Gram-positivos Antimicrobianos e antibiogramas	José Ribeiro José Ribeiro e Nucia Cristiane da Silva Lima
11/09/2014	Manhã Tarde	Enteroparasitas Emergentes Técnicas de Identificação de Coccídeos	Flávia Serrano Batista Flávia Serrano Batista
12/09/2014	Manhã	Análise dos resultados	Flávia Serrano Batista, José Ribeiro e Najla Benevides Matos

### QUIMIOTERAPIA APLICADA À LEISHMANIOSE

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Introdução a leishmaniose, e metodologias	Neuza e Sharon
09/09/2014	Manhã Tarde	Contagem de promastigotas em câmara de Neubauer Metodologia de coleta de macrófagos de BalB/c	Neuza e Sharon Neuza e Sharon
10/09/2014	Manhã Tarde	Coletas de macrófagos em camundongos BalB/c Metodologias de infecção dos macrófagos por <i>L. amazonensis</i>	Neuza e Sharon Neuza e Sharon
11/09/2014	Manhã Tarde	<i>Aplicações de micro e nanopartículas como terapia experimental</i>	Neuza e Sharon
12/09/2014	Manhã	<i>Produção e Caracterização de micropartículas biodegradáveis</i>	Neuza e Sharon

### DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE DOENÇAS INFECCIOSAS

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Aula teórica – Apresentação do laboratório; linhas de pesquisa; Uso de PCR para diagnóstico de doenças infecciosas	Lilian Cantanhêde
09/09/2014	Manhã Tarde	Aula teórica – Introdução aos ácidos nucleicos; Métodos de Extração de DNA e RNA Aula prática - Extração de DNA e RNA	Iasmin Pimentel Lilian Cantanhêde
10/09/2014	Manhã Tarde	Aula teórica - Tipos de PCR; Eletroforese Aula prática - Síntese de cDNA; PCR e eletroforese em Agarose e Poliacrilamida	Iasmin Pimentel Lilian Cantanhêde
11/09/2014	Manhã Tarde	Aula Prática - RFLP e Leitura de gel de poliacrilamida Aula teórica - Tipos de Sequenciamento	Lilian Cantanhêde Lilian Cantanhêde
12/09/2014	Manhã	Aula Prática- Purificação de produto de PCR; Análise de sequências	Lilian Cantanhêde

## ARBOVIROSES

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Histórico da Virologia (teórica)	Weber Cheli
09/09/2014	Manhã Tarde	Diagnóstico Laboratorial de Vírus (teórica) Preparação de Meio Leibowitz 15 e manutenção de células C6/36 (prática)	Weber Cheli Weber Cheli
10/09/2014	Manhã Tarde	Dengue e Febre Amarela (arbovírus) (teórica) Inoculação de monocamada de C6/36 com o vírus da dengue (prática)	Weber Cheli Weber Cheli
11/09/2014	Manhã Tarde	Reação em Cadeia da Polimerase-PCR (teórica) Extração de RNA e RT-PCR (prática)	Weber Cheli Weber Cheli
12/09/2014	Manhã	Eletroforese da RT-PCR (prática)	Weber Cheli

## HEPATITES VIRAIS

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Introdução às hepatites virais (teórica)	Deusilene S. Vieira
09/09/2014	Manhã Tarde	Técnicas moleculares aplicadas no diagnóstico viral (teórica) Técnicas moleculares aplicadas no diagnóstico viral (teórica)	Luan Felipe B. Souza Vanessa Rampasso
10/09/2014	Manhã Tarde	Técnicas moleculares aplicadas no diagnóstico viral (prática) Técnicas moleculares aplicadas no diagnóstico viral (prática)	Fabianne Araújo Fabianne Araújo
11/09/2014	Manhã Tarde	Diagnóstico sorológico viral (teórica) Diagnóstico sorológico viral (prática)	Luan Felipe B. Souza Luan Felipe B. Souza
12/09/2014	Manhã	Encerramento interno e discussão dos resultados	Deusilene S. Vieira

## CARACTERIZAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Aspectos gerais sobre as linhas de pesquisa do CEBio	Leandro e Rudson
09/09/2014	Manhã Tarde	Biologia de serpentes e anuros; Composição do veneno de serpentes e anuros Extração de veneno de serpente	Kayena, Cleópatra e Tiago Kayena
10/09/2014	Manhã Tarde	Cromatografia Prática de Cromatografia	Rafaela, Cláudia e Rodrigo Rafaela, Edailson e Kayano
11/09/2014	Manhã Tarde	Eletroforese; Espectrometria de massa Prática de Eletroforese; Prática de Espectrometria de massa Ensaio Biológicos utilizando venenos;	Rudson, Roniele e Rodrigo Rudson, Antônio e Roniele
12/09/2014	Manhã	Ensaio de hemorragia <i>in vivo</i>	Juliana e Jorge

## NOÇÕES DE CLONAGEM MOLECULAR E EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Fundamentos de Biologia molecular	Nidiane Prado
09/09/2014	Manhã Tarde	Clonagem Molecular (aula 01) PCR e Eletroforese (prática)	Michelle Morais Marcela Silva / Naan Rodrigues
10/09/2014	Manhã Tarde	Clonagem Molecular (aula 02) Digestão e ligação (prática)	Nidiane Prado Marcela Silva / Naan Rodrigues
11/09/2014	Manhã Tarde	Clonagem Molecular (aula 03) Transformação em bactérias quimiocompetentes e eletrocompetentes (prática)	Michele Pereira Michele Pereira e Nidiane Prado
12/09/2014	Manhã	Expressão de Proteínas	Michele Pereira

## ENTOMOLOGIA

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Introdução a Entomologia Médica (teórico)	Frances Trindade
09/09/2014	Manhã Tarde	Métodos de Coleta de Insetos (teórico) TardePrática de Coleta e Epi's (prática)	Carla Zanin Thais
10/09/2014	Manhã Tarde	Criação de Culicídeos: Colônias em Laboratório (teórico) Técnicas de Criação em Laboratório (prática)	Carla e Glaucilene Carla e Glaucilene
11/09/2014	Manhã Tarde	Técnicas de Infecção e Dissecção de Vetores (prática) Estudos Comportamentais de Insetos de Importância Médica (teórico)	Frances Trindade Thais e Daiane
12/09/2014	Manhã	Prospecção (teórico)	Frances Trindade

## CULTURA CELULAR

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Aula teórica: Cultura de células e suas aplicações	Sulamita
09/09/2014	Manhã Tarde	Aula prática: Preparação de meio de cultura Aula prática: Congelamento Descongelamento de células tumorais	Sulamita Sulamita
10/09/2014	Manhã Tarde	Aula prática: Manutenção da cultura Aula prática: Manutenção da cultura	Sulamita Sulamita
11/09/2014	Manhã Tarde	Aula prática: Manipulação experimental Aula prática: Manipulação experimental	Sulamita Sulamita
12/09/2014	Manhã	Aula prática: Separação de células do sangue periférico por gradiente de densidade	Sulamita

## QUIMIOTERAPIA APLICADA À MALÁRIA

Data	Período	Atividade	Instrutor
08/09/2014	Tarde	Análise <i>in vitro</i> de Substâncias Naturais e Sintéticas com possíveis atividades antimaláricas	Flávio Augusto
09/09/2014	Manhã Tarde	Principais técnicas e métodos para cultivo de <i>P. falciparum</i> Técnica de descongelamento das cepas de <i>P. falciparum</i> ; Técnica de manutenção do meio de cultivo; Técnica de congelamento e armazenamento das cepas de <i>Plasmodium falciparum</i>	Flávio Augusto Elci Freitag
10/09/2014	Manhã Tarde	Seleção, solubilização e diluição de drogas para teste; Técnica de contagem de Plasmódio por milímetros cúbicos - mm <sup>3</sup> ; Técnica de Sincronização de Plasmódio; Técnica para realização do teste <i>in vitro</i> Seleção, solubilização e diluição de drogas para teste; Técnica de contagem de Plasmódio por milímetros cúbicos - mm <sup>3</sup> ; Técnica de Sincronização de Plasmódio; Realização do Teste <i>in vitro</i>	Flávio Augusto Elci Freitag
11/09/2014	Manhã Tarde	Técnica de ensaio imunoenzimático ELISA Revelação dos testes de ELISA	Flávio Augusto Flávio Augusto
12/09/2014	Manhã	Análise estatística do teste <i>in vitro</i> e interpretação dos resultados	Flávio Augusto

## XXII RAIC e VI EPEIC



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

A Fiocruz Rondônia e a Embrapa Rondônia abriram na tarde desta terça-feira (23) a 22ª Reunião Anual de Iniciação Científica da Fiocruz e o V Encontro de Iniciação Científica à Pesquisa (EIPER) da Embrapa, no auditório biólogo Paulo Manoel na Embrapa Rondônia.

A RAIC tem o objetivo de proporcionar uma oportunidade para exposição e discussão dos trabalhos de bolsistas de iniciação científica e iniciação tecnológica, com vistas à avaliação do desenvolvimento dos projetos e ao intercâmbio de experiências entre estudantes, pesquisadores e demais profissionais. Já o V Encontro de Iniciação à Pesquisa da Embrapa Rondônia (EIPER) tem como meta divulgar as atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação realizadas pelos estagiários e bolsistas da Unidade, englobando as áreas administrativa, de pesquisa e de transferência de tecnologia.

Antes da abertura do trabalho, o diretor da Fiocruz Rondônia, Ricardo de Godoi Mattos Ferreira, destacou a importância da iniciação científica no ambiente acadêmico. “É uma fase de aguçar a curiosidade. Estamos criando um microambiente acadêmico dentro da Fiocruz Rondônia juntamente com a Embrapa Rondônia e em outros eventos com a UNIR (Universidade Federal de Rondônia), buscando dessa forma a integração em prol da discussão do conhecimento em nosso estado”, frisou.

Já o coordenador do EIPER e representante da Embrapa Rondônia, Cléber de Freitas Fernandes, ressaltou a importância da troca de conhecimentos em eventos de iniciação científica. “São nesses eventos que todos passam a conhecer o trabalho de cada um, trocar ideias e unir esforços para o desenvolvimento de novos projetos”, confirmou.

Ainda antes da palestra, o representante da Embrapa Rondônia, Cléber de Freitas Fernandes, presenteou o Diretor da Fiocruz Rondônia, Ricardo de Godoi Mattos Ferreira, e o Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação da UNIR (Universidade Federal de Rondônia), Ari Miguel Teixeira Ott, em virtude da parceria em eventos entre ambas instituições com a Embrapa Rondônia. Em seguida, o palestrante da abertura, Ari Miguel Teixeira Ott, abriu os trabalhos apresentando o tema “A Iniciação Científica e a Educação para a Ciência” para todos os presentes.

As apresentações orais de trabalhos serão realizadas a partir desta quarta-feira até à próxima sexta-feira nos períodos da manhã e tarde no auditório da Embrapa Rondônia. Já as apresentações de trabalhos em banners serão realizadas na quinta e sexta-feira no corredor do Bloco A da Embrapa Rondônia.

A 22ª Reunião Anual de Iniciação Científica da Fiocruz e o V Encontro de Iniciação Científica à Pesquisa (EIPER) da Embrapa contam com a parceria do CNPq, Capes e Bionorte.

## MALARIA CONTROL: FROM THE BENCH TO THE FIELD



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

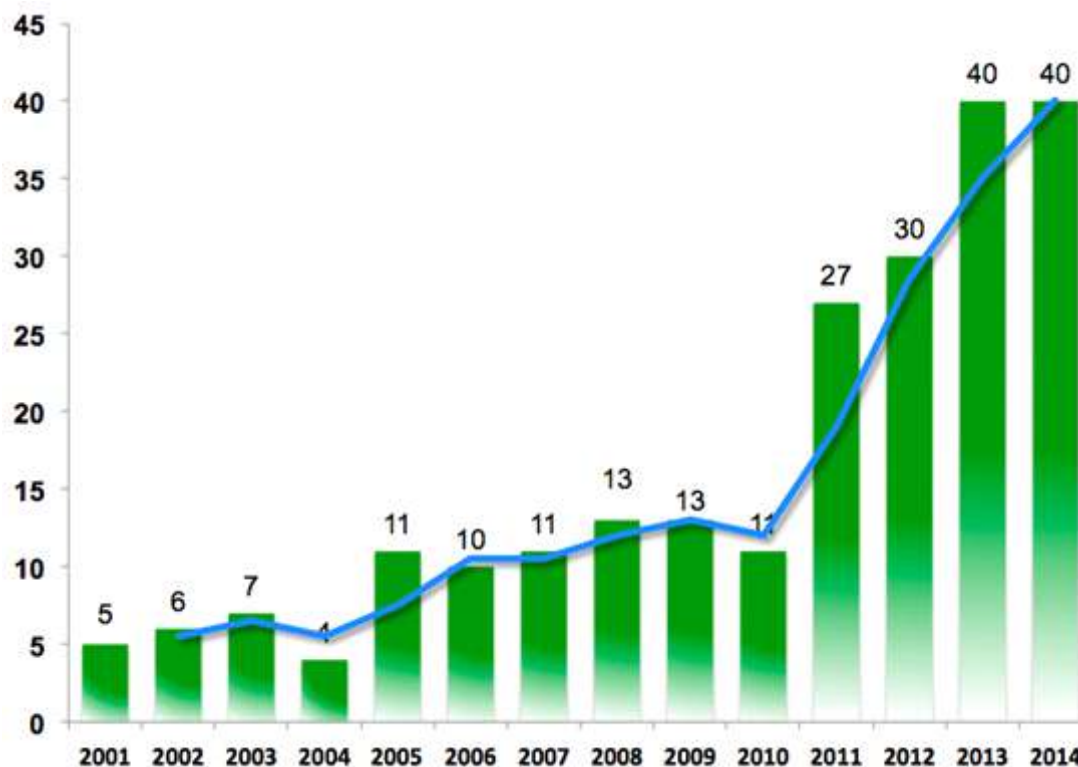
From November 16th to 18th we will be holding the Workshop "Multidisciplinary Malaria Research in the Era of Eradication" in Porto Velho, at Auditorium of Tribunal de Contas de Rondônia, Presidente Dutra Avenue, 4229, Olaria. Renowned scientists from Harvard University, Fiocruz, Institute of Tropical Medicine, Center of Scientific Research at Caucaseco, Institute for Research in Tropical Diseases, University of Campinas, São Paulo University, Notre Dame University, University of Massachusetts, USNAID, and the Federal University of Rondônia will attend the event.

Registrations must be done online by completing the electronic form. These will be approved, according to the availability of vacancies, after submission of proof of payment of registration. Obligated the use of identification.

From november 19th to 21th the Course "Malaria Control; From the Bench to the Field" will also be offered for a limited number of graduate and post-doctoral students.

## PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

A Fundação Oswaldo Cruz possui como missão “Produzir, disseminar e compartilhar conhecimentos e tecnologias voltadas para o fortalecimento e consolidação do Sistema Único de Saúde (SUS) e que contribuam para a promoção da Saúde e da qualidade de vida da população brasileira, para a redução das desigualdades sociais e para a dinâmica nacional de inovação, tendo a defesa do direito à saúde e da cidadania ampla como valores centrais”. Visando alcançar esta premissa, as pesquisas desenvolvidas no âmbito da Fiocruz abrangem diversas áreas do campo do saber que podem ser agrupadas dentro de 29 áreas de pesquisa, sendo estas subdivididas em diversas linhas de pesquisa.



Evolução do número de publicações científicas (artigos em periódicos, livros e capítulos de livro) publicados pelos pesquisadores da Fiocruz Rondônia, IPEPATRO e CEPEM a partir de 2001. Os dados evidenciam um aumento crescente na produtividade, representada pelo aumento de publicações.

Atualmente, a Fiocruz Rondônia conta com 23 doutores atuando principalmente em projetos de pesquisa que estão contidos dentro de 14 áreas de pesquisa da Fiocruz abaixo relacionadas.

1. Entomologia, Biologia de Vetores e Reservatórios de Agentes Infeciosos;
2. Microbiologia em Saúde e Ambiente;
3. Virologia e Saúde;
4. Parasitologia;
5. Imunidade e Inflamação;
6. Modelos Experimentais de Doenças;
7. Doenças Crônicas e Não-Transmissíveis, Medicina Regenerativa;
8. Nanotecnologia e Novos Materiais;
9. Genômica, Proteômica, Biologia de Sistemas, Biologia Sintética, Computação;
10. Genética e Epidemiologia Molecular em Saúde, Farmacogenética;
11. Pesquisa Clínica e Ensaios Clínicos;
12. Vigilância em Saúde;
13. Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos;
14. Pesquisa e Desenvolvimento de Diagnósticos.



## Relação de Artigos, Livros e Capítulos Publicados entre 2001 e julho de 2014

2014

- 01 Aguiar, A.C.; Pereira, D.B.; Amaral, N.S.; De Marco, L.; Krettli, A.U. *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* ex vivo susceptibility to anti-malarials and gene characterization in Rondonia, West Amazon, Brazil. **Malaria Journal**, 13: 73, 2014.
- 02 Ataíde, M.A.; Andrade, W.A.; Zamboni, D.S.; Wang, D.; Souza, M.C.; Franklin, B.S.; Elian, S.; Martins, F.S.; Pereira, D.; Reed, G.; Fitzgerald, K.A.; Golenbock, D.T.; Gazzinelli, R.T. *Malaria-Induced NLRP12/NLRP3-Dependent Caspase-1 Activation Mediates Inflammation and Hypersensitivity to Bacterial Superinfection*. **PLoS Pathogens**, 10: e1003885, 2014.
- 03 Basano, S.D.A.; Fontes, G.; Medeiros, J.F.; Camargo, J.S.D.A.A.; Vera, L.J.S.; Araujo, M.P.P.; Parente, M.S.P.; Ferreira, R.D.G.M.; Crispim, P.D.T.B.; Camargo, L.M.A. *Sustained Clearance of *Mansonella ozzardi* Infection after Treatment with Ivermectin in the Brazilian Amazon*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 90: 1170-1175, 2014.
- 04 Batista, E.P.; Costa, E.F.M.; Silva, A.A. *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) displays increased attractiveness to infected individuals with *Plasmodium vivax* gametocytes. **Parasites & Vectors**, 7: 251, 2014.
- 05 Botelho-Souza, L.F.; Dos Santos, A.O.; Borzacov, L.M.; Honda, E.R.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Vieira, D.S. *Development of a reverse transcription quantitative real-time PCR-based system for rapid detection and quantitation of hepatitis delta virus in the western Amazon region of Brazil*. **Journal of Virological Methods**, 197: 19-24, 2014.
- 06 Calderon, L.A.; Sobrinho, J.; Zaqueo, K.D.; Moura, A.A.; Grabner, A.; Mazzi, M.; Marcussi, S.; Nomizo, A.; Fernandes, C.C.; Zuliani, J.P.; Carvalho, B.M.A.; Silva, S.L.; Stábéli, R.G.; Soares, A.M. *Antitumoral Activity of Snake Venom Proteins: New Trends in Cancer Therapy*. **BioMed Research International**, 2014: 1-19, 2014.
- 07 Carvalho, B.M.A.; Carvalho, L.; Silva Jr, W.F.; Minim, L.; Soares, A.M.; Carvalho, G.G.P.; Da Silva, S.L. *Direct capture of lactoferrin from cheese whey on supermacroporous column of polyacrylamide cryogel with copper ions*. **Food Chemistry**, 154: 308-314, 2014.
- 08 Da Silva, S.L.; Rowan, E.G.; Albericio, F.; Stábéli, R.G.; Calderon, L.A.; Soares, A.M. *Animal Toxins and Their Advantages in Biotechnology and Pharmacology*. **BioMed Research International**, 2014: 1-2, 2014.
- 09 Santos, A.O.; Souza, L.F.; Borzacov, L.; Villalobos-Salcedo, J.; Vieira, D. *Development of cost-effective real-time PCR test: to detect a wide range of HBV DNA concentrations in the western amazon region of Brazil*. **Virology Journal**, 11: 16, 2014.
- 10 Furtado, J.L.; Oliveira, G.A.; Pontes, A.S.; Setubal, S.S.; Xavier, C.V.; Silva-Lacouth, F.; Lima, B.F.; Zaqueo, K.D.; Kayano, A.M.; Calderon, L.A.; Stábéli, R.G.; Soares, A.M.; Zuliani, J.P. *Activation of J77A.1 Macrophages by Three Phospholipases A2 Isolated from *Bothrops atrox* Snake Venom*. **BioMed Research International**, 2014: 1-13, 2014.
- 11 Gimenez, G.; Coutinho Neto, A.; Kayano, A.M.; Simoes-Silva, R.; Trindade, F.; Almeida E Silva, A.; Marcussi, S.; Silva, S.L.; Fernandes, C.C.; Zuliani, J.P.; Calderon, L.A.; Soares, A.M.; Stábéli, R.G. *Alkylation of Histidine Residues of *Bothrops jararacussu* Venom Proteins and Isolated Phospholipases: A Biotechnological Tool to Improve the Production of Antibodies*. **BioMed Research International**, 2014: 1-12, 2014.
- 12 Gimenez, G.S.; Neto, A.C.; Kayano, A.M.; Silva, R.S.; Trindade, F.T.T.; Silva, A.A.E.; Marcussi, S.; Silva, S.L.; Fernandes, C.F.C.; Zuliani, J.P.; Calderon, L.A.; Soares, A.M.; Stábéli, R.G. *Biochemical and Functional Characterization of *Parawixia bistriata* Spider Venom with Potential Proteolytic and Larvicidal Activities*. **BioMed Research International**, 2014: 1-13, 2014.
- 13 Gonçalves, A.Q.; Abellana, R.; Pereira-Da-Silva, H.D.; Santos, I.; Serra, P.T.; Julião, G.R.; Orlandi, P.P.; Ascaso, C. *Comparison of the performance of two spontaneous sedimentation techniques for the diagnosis of human intestinal parasites in the absence of a gold standard*. **Acta Tropica**, 131: 63-70, 2014.
- 14 Guimaraes, C.L.S.; Moreira-Dill, L.S.; Fernandes, R.S.; Costa, T.R.; Hamelin, L.I.S.H.; Marcussi, S.; Da Silva, S.; Zuliani, J.P.; Fernandes, C.F.C.; Calderon, L.A.; Soares, A.M.; Stábéli, R.G. *Biodiversity as a source of bioactive compounds against snakebites*. **Current Medicinal Chemistry**, 21: 2807-2834, 2014.
- 15 Izidoro, L.F.; Sobrinho, J.; Mendes, M.; Costa, T.; Grabner, A.; Belebony, R.; Rodrigues, V.M.; Silva, S.L.; Zanchi, F.B.; Zuliani, J.P.; Fernandes, C.C.; Calderon, L.A.; Stábéli, R.G.; Soares, A.M. *Snake Venom L-Amino Acid Oxidases: Trends in Pharmacology and Biochemistry*. **BioMed Research International**, 2014: 1-19, 2014.
- 16 Martins, W.; Baldasso, P.A.; Honorio, K.; Maltarollo, V.G.; Ribeiro, R.; Carvalho, B.M.A.; Calderon, L.A.; Stábéli, R.G.; Caballol, M.A.O.; Acosta, G.; Oliveira, E.; Soares, A.M.; Marangoni, S. *A Novel Phospholipase A2 (D49) from the Venom of the *Crotalus oreganus abyssus* (North American Grand Canyon Rattlesnake)*. **BioMed Research International**, 2014: 1-15, 2014.
- 17 Medeiros, J.F.; Costa, C.A.; Lima, A.M.; Pessoa, F.A.C. **Mansonella ozzardi* (Nematoda: Onchocercidae) in the riverine population of the Tefé River, State of Amazonia, Brazil*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 47: 113-115, 2014.
- 18 Medeiros, J.F.; Rodrigues, M.S.; Katsuragawa, T.H.; Costa, C.A.; Pessoa, F.A.C. **Mansonella ozzardi* in the municipality of Tefé, Amazonas, Brazil, 60 years after the first report: an epidemiologic study*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 0: 01-10, 2014.
- 19 Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Camargo, L.M.A. *Mansonellosis: a Brazilian neglected disease*. **Revista de Patologia Tropical**, 43: 1-6, 2014.
- 20 Medeiros, M.M.; Fotoran, W.L.; Dalla Martha, R.C.; Katsuragawa, T.H.; Pereira Da Silva, L.H.; Wunderlich, G. *Natural antibody response to *Plasmodium falciparum* merozoite antigens MSP5, MSP9 and EBA175 is associated to clinical protection in the Brazilian Amazon*. **BMC Infectious Diseases**, 13: 608, 2013.
- 21 Moura, A.A.; Kayano, A.M.; Oliveira, G.A.; Setubal, S.S.; Ribeiro, J.; Barros, N.B.; Nicolete, R.; Andrade, L.M.; Fuly, A.L.; Nomizo, A.; Silva, S.L.; Fernandes, C.C.; Zuliani, J.P.; Stábéli, R.G.; Soares, A.M. *Purification and Biochemical Characterization of Three Myotoxins from *Bothrops mato grossoensis* Snake Venom with Toxicity against *Leishmania* and Tumor Cells*. **BioMed Research International**, 2014: 1-13, 2014.
- 22 Pereira Da Silva, L.H. *One day in François Jacob's laboratory*. **Research in Microbiology**, 1: 1, 2014.
- 23 Pontes, A.S.; Setubal, S.S.; Xavier, C.V.; Silva-Lacouth, F.; Kayano, A.M.; Pires, W.L.; Néry, N.M.; Castro, O.B.; Silva, S.D.; Calderon, L.A.; Stábéli, R.G.; Soares, A.M.; Zuliani, J.P. *Effect of L-amino acid oxidase from *Calloselasma rhodostoma* snake venom on human neutrophils*. **Toxicon**, 80: 27-37, 2014.
- 24 Queiroz, M.R.; Mamede, C.C.N.; Morais, N.C.G.; Fonseca, K.C.; Sousa, B.B.; Migliorini, T.M.; Pereira, D.F.C.; Stanzola, L.; Calderon, L.A.; Simões-Silva, R.; Soares, A.M.; Oliveira, F. *Purification and Characterization of BmooAi: A New Toxin from *Bothrops moojeni* Snake Venom That Inhibits Platelet Aggregation*. **BioMed Research International**, 2014: 1-7, 2014.
- 25 Ramos, W.R.; Medeiros, J.F.; Julião, G.R.; Rios-Velásquez, C.M.; Marialva, E.F.; Pessoa, F.A.C.; Luz, S.L.B. *Anthropic effects on sand fly (Diptera: Psychodidae) abundance and diversity in an Amazonian rural settlement, Brazil*. **Acta Tropica**, 139: 00-00, 2014.

- 26 Sousa, L.P.; Mariuba, L.A.; Holanda, R.J.; Pimentel, J.P.; Almeida, M.E.; Chaves, Y.O.; Borges, D.; Lima, E.; Craine, J.L.; Orlandi, P.P.; Lacerda, M.V.; Nogueira, P.A. *A novel polyclonal antibody-based sandwich ELISA for detection of Plasmodium vivax developed from two lactate dehydrogenase protein segments. BMC Infectious Diseases*, 14: 49, 2014.
- 27 Trape, J.F.; Tall, A.; Sokhna, C.; Ly, A.B.; Diagne, N.; Ndiath, O.; Mazonot, C.; Richard, V.; Badiane, A.; Dieye-Ba, F.; Faye, J.; Ndiaye, G.; Diene Sarr, F.; Roucher, C.; Bouganali, C.; Bassène, H.; Touré-Baldé, A.; Roussilhon, C.; Perraut, R.; Spiegel, A.; Sarthou, J.L.; Pereira Da Silva, L.H.; Mercereau-Puijalon, O.; Druilhe, P.; Rogier, C. *The rise and fall of malaria in a west African rural community, Dielmo, Senegal, from 1990 to 2012: a 22 year longitudinal study. Lancet. Infectious Diseases*, 14: 476-488, 2014.
- 28 Trindade, F.T.T.; Soares, A.A.; Moura, A.A.; Soares, A.M.; Stabeli, R.G.; Calderon, L.A.; Silva, A.A.E. *Insecticidal activity of Leptodactylus knudseni and Phyllomedusa vaillantii crude skin secretions against the mosquitoes Anopheles darlingi and Aedes aegypti. The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 20: 28, 2014.
- 29 Zaqueo, K.D.; Kayano, A.M.; Simões-Silva, R.; Moreira-Dill, L.S.; Fernandes, C.F.C.; Fuly, A.L.; Maltarollo, V.; Honorio, K.; Silva, S.L.; Acosta, G.; Oliveira, E.; Albericio, F.; Calderon, L.A.; Soares, A.M.; Stabeli, R.G. *Isolation and Biochemical Characterization of a New Thrombin-Like Serine Protease from Bothrops pirajai Snake Venom. BioMed Research International*, 2014: 1-13, 2014.30Julião, G.R.; Almada, E.D.; Fernandes, G.W. Galling Insects in the Pantanal Wetland and Amazonian Rainforest. In: Fernandes, G.W.; Santos, J.C. (Org.). *Neotropical Insect Galls*. 1ed.: 2014, v. , p. 19-.
- 30 Julião, G.R.; Almada, E.D.; Fernandes, G.W. Galling Insects in the Pantanal Wetland and Amazonian Rainforest. In: Fernandes, G.W.; Santos, J.C. (Org.). *Neotropical Insect Galls*. 1ed.: 2014, v. , p. 19-.
- 31 FERNANDES, C.F.C. ; SCHWEICKARDT, J. C. ; Stabeli, R.G. ; MORAIS, M. O. ; GUILAM, M. C. R. ; LIMA, N. V. T. . A contribuição da Fundação Oswaldo Cruz para o Ensino de Pós-graduação na Amazônia: Experiências nos Estados do Amazonas e Rondônia. *RBPG. Revista Brasileira de Pós-Graduação*, v. 11, p. 2358-2332, 2014.
- 32 Andreimar M. Soares . In memoriam: Prof. Dr. José Roberto Giglio and his contributions to toxinology. *Toxicon*. Volume 89, October 2014, Pages 91–93.
- 33 Nadur-Andrade N1, Dale CS, Santos AS, Soares AM, de Lima CJ, Zamuner SR. Photobiostimulation reduces edema formation induced in mice by Lys-49 phospholipases A2 isolated from Bothrops moojeni venom. *Photochem Photobiol Sci*. 2014 Nov;13(11):1561-7.
- 34 A. Kay, E. Melo da Silva, H. Pedreira, S. Negreiros, C. Lobato, W. Braga, R. Muwonge, P. Dény, M. Reis, F. Zoulim, C. Trepó, A. D'Oliveira Jr, J. M. Salcedo, M. I. Schinoni and R. Parana. HBV/HDV co-infection in the Western Brazilian Amazonia: an intriguing mutation among HDV genotype 3 carriers. *J Viral Hepat*. Volume 21, Issue 12, pages 921–924, December 2014.
- 35 Aline F Angêlla, Patrícia Salgueiro, Luiz HS Gil, José L Vicente, João Pinto, and Paulo EM Ribolla. Seasonal genetic partitioning in the neotropical malaria vector, *Anopheles darlingi*. *Malar J*. 2014; 13: 203.
- 36 Frances TT Trindade, Ângela A Soares, Andréa A de Moura, Tiago B Rego, Andreimar M Soares, Rodrigo G Stábeli, Leonardo A Calderon and Alexandre de Almeida e Silva. Insecticidal activity of *Leptodactylus knudseni* and *Phyllomedusa vaillantii* crude skin secretions against the mosquitoes *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti*. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis*. 2014, vol.20, pp. 1-6. Epub Sep 09, 2014. ISSN 1678-9199.
- 37 TELES, Carolina Bioni Garcia ; VIEIRA, G. D. ; ALVES, T. C. ; YAMAGISHI, A. Y. ; VIEIRA, N. N. . A deposição de peptídeo beta-amiloide e as alterações vasculares presentes na doença de Alzheimer. *Journal of Health & Biological Sciences*, v. 2, p. 218-223, 2014.
- 38 Moisés Santos de Souza, Alexandre Almeida e Silva, César Augusto Domingues Teixeira & José Nilton Medeiros Costa. Parasitismo na População da Broca-do-Café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), pelo Parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyilidae). *EntomoBrasilis* 7 (3): 178-182 (2014).
- 39 Antonelli LRV, Leoratti FMS, Costa PAC, Rocha BC, Diniz SQ, et al. (2014) The CD14+CD16+ Inflammatory Monocyte Subset Displays Increased Mitochondrial Activity and Effector Function During Acute Plasmodium vivax Malaria. *PLoS Pathog* 10(9): e1004393.
- 40 Vieira Gde D1, Gim KN, Zaqueo GM, Alves Tda C, Katsuragawa TH, Basano Sde A, Camargo LM, Maciel de Sousa C. Reduction of incidence and relapse or recrudescence cases of malaria in the western region of the Brazilian Amazon. *J Infect Dev Ctries*. 2014 Sep 12;8(9):1181-7.

## 2013

- 01 Barros, N.B.; Nicolette, R.; Migliaccio, V.; Facundo, V.; Ciancaglini, P.; Stabeli, R.G.; Silva-Jardim, I. *Liposomal-lupane system as alternative chemotherapy against cutaneous leishmaniasis: Macrophage as target cell. Experimental Parasitology*, 01, 2013.
- 02 Carvalho, B.M.A.; Santos, J.; Xavier, B.; Almeida, J.R.; Resende, L.; Martins, W.; Marcussi, S.; Marangoni, S.E.; Stábeli, R.G.; Calderon, L.A.; Soares, A.M.; Silva, S.L.; Marchi-Salvador, D. Snake Venom PLA2s *Inhibitors Isolated from Brazilian Plants: Synthetic and Natural Molecules. BioMed Research International*, 2013:1-8, 2013.
- 03 Carvalho, B.M.A.; Silva, L.; Carvalho, L.; Soares, A.M.; Minim, L.; Da Silva, S.L. *Microcalorimetric study of the adsorption of lactoferrin in supermacroporous continuous cryogel with immobilized Cu<sup>2+</sup> ions. Journal of Chromatography*, 1312: 1-9, 2013.
- 04 Chagas, A. C. ; Calvo, E. ; Rios-Velásquez, C.M. ; Pessoa, F.A.C. ; Medeiros, J.F. ; Ribeiro, J.M.C. . A deep insight into the sialotranscriptome of the mosquito, *Psorophora albipes*. *BMC Genomics*, 14: 875-875, 2013.
- 05 Costa, J.D.N.; Zanchi, F.B.; Rodrigues, F.L.S.; Honda, E.R.; Katsuragawa, T.H.; Pereira, D.B.; Tabora, R.L.M.; Tada, M.S.; Ferreira, R.G.M.; Pereira-da-Silva, L.H. *Cross-reactive anti-PfCLAG9 antibodies in the sera of asymptomatic parasite carriers of Plasmodium vivax. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108: 98-105, 2013.
- 06 Coutinho-Neto, A.; Caldeira, C.A.S.; Zaqueo, K.D.; Kayano, A.M.; Simões-Silva, R.; Souza, G.H.M.F.; Zuiliani, J.P.; Soares, A.M.; Stábeli, R.G.; Calderon, L.A. *ESI-MS/MS identification of a bradykinin-potentiating peptide from amazon Bothrops atrox snake venom using a hybrid Qq-oaToF mass spectrometer. Toxins*, 5: 327-335, 2013.
- 07 Da Silva Araújo, M.; Messias, M.R.; Figueiró, M.R.; Gil, L.H.; Probst, C.M.; De Medeiros Vidal, N.; Katsuragawa, T.H.; Krieger, M.A.; Pereira Da Silva, L.H.; Ozaki, L.S. *Natural Plasmodium infection in monkeys in the state of Rondonia (Brazilian Western Amazon). Malaria Journal*, 12: 180, 2013.
- 08 De Oliveira, J.F.F.; Garreto, D.V.; Silva, M.C.P.; Fortes, T.S.; Oliveira, R.B.; Nascimento, F.R.F.; Costa, F.B.; Grisotto, M.A.G.; Nicolette, R. *Therapeutic potential of biodegradable microparticles containing Punica granatum L. (pomegranate) in murine model of asthma. Inflammation Research*, 62: 971-980, 2013.
- 09 Delaix-Zaqueo, K.; Serrano, R.O.P.; Zaqueo, K.D.; Hungria, D.B.; Stábeli, R.G.; Zuiliani, J.P.; Soares, A.M.; Calderon, L.A. *Amphibia, Anura, Microhylidae, Gastrophryninae, Elachistocleis Bicolor Guérin Méneville, 1838: Distribution Extension and Geographic Distribution Map. Global Journal of Medical Research*, XIII: 15-18, 2013.

- 10 Dias, Q.M.; Rossaneis, A.C.; Prado, W.A. *An improved experimental model for peripheral neuropathy in rats. Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 46: 253-256, 2013.
- 11 Fais, R.S.; Reis, G.M.; Dias, Q.M.; Rossaneis, A.C.; Silveira, J.W.; Prado, W.A. *Amitriptyline prolongs the antihyperalgesic effect of 2Hz electroacupuncture in mononeuropathic rats. Acupuncture and Related Therapies*, 1: 20-26, 2013.
- 12 Fernandes, C.A.H.; Comparetti, E.; Borges, R.J.; Huancahuire-Vega, S.; Ponce-Soto, L.A.; Marangoni, S.; Soares, A.M.; Fontes, M.R.M. *Structural bases for a complete myotoxic mechanism: crystal structures of two non-catalytic phospholipases A2-like from Bothrops brazili venom. Biochimica et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics*, 1834: 2772-2781, 2013.
- 13 Gomes, L.T.; Tada, M.S.; Katsuragawa, T.H.; Povoá, M.M.; Viana, G.M.R.; Alecrim, M.G.C.; De Santana-Filho, F.S.; Arcanjo, A.R.L.; Couto, A.A.R.A.; Calvosa, V.S.P.; Nery, A.F.; Fontes, C.J.F. *Low sensitivity of malaria rapid diagnostic tests stored at room temperature in the Brazilian Amazon Region. Journal of Infection in Developing Countries*, 7: 243-252, 2013.
- 14 Grillo, V.T.R.S.; Gonçalves, T.G.; Júnior, J.C.; Paniágua, N.C.; Teles, C.B.G. *Incidência bacteriana e perfil de resistência a antimicrobianos em pacientes pediátricos de um hospital público de Rondônia, Brasil. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 34: 117-123, 2013.
- 15 Jakobi, H.R.; Barbosa-Branco, A.; Bueno, L.F.; Ferreira, R.G.M.; Camargo, L.M.A. *Incapacidade para o trabalho: análise dos benefícios auxílio-doença concedidos no estado de Rondônia. Ciência e Saúde Coletiva*, 18:3157-3168, 2013
- 16 Katsuragawa, T.H.; Gil, L.H.S.; Lima, A.A.D.; Freitag, E.M.; Santos, T.M.; Nascimento Filha, M.T.; Santos Júnior, A.P.J.; Silva, J.M.; Rodrigues, A.F.; Tada, M.S.; Fontes, C.J.F.; Pereira-da-Silva, L.H. *Selective intermittent preventive treatment of vivax malaria: reduction of malaria incidence in an open cohort study in Brazilian Amazon. Malaria Research and Treatment*, 2013: 1-11, 2013.
- 17 Marcussi, S.; Stábeli, R.G.; Santos-Filho, N.A.; Menaldo, D.L.; Silva Pereira, L.L.; Zuliani, J.P.; Calderon, L.A.; Da Silva, S.L.; Gregg Antunes, L.M.; Soares, A.M. *Genotoxic effect of bothrops snake venoms and isolated toxins on human lymphocyte DNA. Toxicon*, 65: 9-14, 2013.
- 18 Marinotti, O.; Cerqueira, G.C.; De Almeida, L.G.P.; Ferro, M.I.T.; Loreto, E.L.D.S.; Zaha, A.; Teixeira, S.M.R.; Wespiser, A.R.; Almeida E Silva, A.; Schlindwein, A.D.; Pacheco, A.C.L.; Da Silva, A.L.D.C.; Graveley, B.R.; Walenz, B.P.; De Araujo Lima, B.; Ribeiro, C.A.G.; Nunes-Silva, C.G.; De Carvalho, C.R.; De Almeida Soares, C.M.; De Menezes, C.B.A.; Matioli, C.; Caffrey, D.; Araujo, D.A.M.; De Oliveira, D.M.; Golenbock, D.; Grisard, E.C.; Fantinatti-Garboggini, F.; De Carvalho, F.M.; Barcellos, F.G.; Prosdociimi, F.; May, G.; De Azevedo, G.M.; Guimaraes, G.M.; Goldman, G.H.; Padilha, I.Q.M.; Batista, J.D.S.; Ferro, J.A.; Ribeiro, J.M.C.; Fietto, J.L.R.; Dabbas, K.M.; Cerdeira, L.; Agnez-Lima, L.F.; Brocchi, M.; De Carvalho, M.O.; Teixeira, M.D.M.; De Mascena Diniz Maia, M.; Goldman, M.H.S.; Cruz Schneider, M.P.; Felipe, M.S.S.; Hungria, M.; Nicolas, M.F.; Pereira, M.; Montes, M.A.; Cantao, M.E.; Vincentz, M.; Rafael, M.S.; Silverman, N.; Stoco, P.H.; Souza, R.C.; Vicentini, R.; Gazzinelli, R.T.; Neves, R.D.O.; Silva, R.; Astolfi-Filho, S.; Maciel, T.E.F.; Urmenyi, T.P.; Tadei, W.P.; Camargo, E.P.; De Vasconcelos, A.T.R. *The Genome of Anopheles darlingi, the main neotropical malaria vector. Nucleic Acids Research*, 1-14, 2013
- 19 Matias, R.R.; Medeiros, J.F.; Costa, C.A. *Diagnóstico da Mansonella ozzardi (Nematoda, Onchocercidae) em Simuliidae (Diptera) pela Reação da Cadeia da Polimerase-PCR. Revista Científica Literatus*, 9: 53-55, 2013.
- 20 Pereira, P.A.T.; Nicolete, R.; Trindade, B.B.; Secatto, A.; Peres-Buzalaf, C.; Ramos, S.G.; Sadikot, R.; Bitencourt, C.S.; Faccioli, L.H. *Celecoxib improves host defense through prostaglandin inhibition during histoplasma capsulatum infection. Mediators of Inflammation*, 2013: 1-11, 2013.
- 21 Rueda, A.Q.; Zuliani, J. P.; Rodríguez González, I.I.; Arantes, E.C.; Setubal, S.S.; Calderon, L.A.; Stábeli, R.G.; Soares, A.M. *Action of two phospholipases A2 purified from Bothrops alternatus snake venom on macrophages. Biochemistry*, 78: 194-203, 2013.
- 22 Rueda, A.Q.; Rodríguez González, I.I.; Arantes, E.C.; Setubal, S.S.; Calderon, L.A.; Zuliani, J.P.; Stábeli, R.G.; Soares, A.M. *Biochemical characterization, action on macrophages and superoxide anion production of four basic phospholipases A2 from panamanian Bothrops asper snake venom. BioMed Research International*, 2013: 1-9, 2013.
- 23 Rueda, A.Q.; Rodríguez, I.G.; Arantes, E.C.; Setubal, S.S.; Calderon, L.A.; Zuliani, J.P.; Stábeli, R.G.; Soares, A.M. *Biochemical Characterization, Action on Macrophages, and Superoxide Anion Production of Four Basic Phospholipases A2 from Panamanian Bothrops asper Snake Venom. BioMed Research International*, 2013: 1-9, 2013.
- 24 Sa, P.C.; Noronha-Matos, J.B.; Timoteo, M.A.; Ferreirinha, F.; Marques, P.; Soares, A.M.; Carvalho, C.; Cavalcanti W.L.G.; Gallacci, M. *Bothropstoxin-I reduces evoked acetylcholine release from rat motor nerve terminals: radiochemical and real-time video-microscopy studies. Toxicon*, 61: 16-25, 2013.
- 25 Salvador, G.H.M.; Fernandes, C.A.H.; Magro, A.J.; Marchi-Salvador, D.P.; Cavalcante, W.L.G.; Fernandez, R.M.; Gallacci, M.; Soares, A.M.; Oliveira, C.L.P.; Fontes, M.R.M. *Structural and phylogenetic studies with MJTX-I reveal a multi-oligomeric toxin - a novel feature in Lys49-PLA2s protein class. Plos One*, 8: E60610, 2013.
- 26 Salvador, Guilherme H.M. ; Cavalcante, Walter L.G. ; Dos Santos, Juliana I. ; Gallacci, Márcia ; Soares, Andreimar M. ; Fontes, Marcos R.M. *Structural and functional studies with mytoxin II from Bothrops moojeni reveal remarkable similarities and differences compared to other catalytically inactive phospholipases A2-like. Toxicon*, 72: 52-63, 2013.
- 27 Sandra, C.A.; Estevam, G.K.; Penati, M.; Soares, L.A.; Ferreira, R.G.; Orlandi, P.P.; Najla, B.M. *Detection of rotavirus in children with acute gastroenteritis in Porto Velho, Rondonia, Brazil. Archives of Virology*, 705: 01-02, 2013.
- 28 Setubal, S. S. ; Zuliani, J. P. ; Pontes, A. S. ; Nery, N.M. ; Bastos, J. S. F. ; Castro, B.C. ; Pires, W. L. ; Zaqueo, K.D. ; Calderon, L.A. ; Stábeli, R.G. ; Soares, A. M. . *Effect of Bothrops bilineata snake venom on neutrophil function. Toxicon*, 76: 143-149, 2013.
- 29 Setubal, S.S.; Pontes, A.S.; Furtado, J.L.; Xavier, C.V.; Silva, F.L.; Kayano, A.M.; Izidoro, L.F.M.; Soares, A.M.; Calderon, L.A.; Stábeli, R.G.; Zuliani, J.P. *Action of two phospholipase A2 purified from Bothrops alternatus snake venom on macrophages. Biochemistry*, 78: 194-203, 2013.
- 30 Silveira, L.B.; Marchi-Salvador, D.P.; Santos-Filho, N.A.; Silva-Jr, F.P.; Marcussi, S.; Fuly, A.L.; Nomizo, A.; Da Silva, S.L.; Stábeli, R.G.; Arantes, E.C.; Soares, A.M. *Isolation and expression of a hypotensive and anti-platelet acidic phospholipase A2 from Bothrops moojeni snake venom. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 73: 35-43, 2013.
- 31 Teles, C.B.G.; Basano, S.A.; Zagonel-Oliveira, M.; Campos, J.J.; Oliveira, A.F.J.; Freitas, R.A.; Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Barral, A.; Camargo, L.M.A. *Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis and phlebotomine sandfly population, in the municipality of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46: 60-66, 2013.
- 32 Teles, C.B.G.; Freitas, R.A.; Oliveira, A.F.J.; Ogawa, G.M.; Cavalcante, E.; Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Camargo, L.M.A. *Description of a new phlebotomine species (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) and new records of sand flies from the State of Acre, northern Brazil. Zootaxa*, 3609: 85-90, 2013.
- 33 Teles, C.B.G.; Basano, S.A.; Zagonel-Oliveira, M.; Campos, J.J.; Oliveira, A.F.J.; Freitas, R.A.; Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.; Barral, A.M.P.; Camargo, L.M.A. *Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis and phlebotomine sandfly population in the municipality of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46: 1-66, 2013.

- 34 Teles, C.B.G.; Freitas, R.A.; Oliveira, A.F.J.; Ogawa, G.M.; Cavalcante, E.A.; Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.; Camargo, L.M.A. *Description of a new phlebotomine species (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) and new records of sand flies from the State of Acre, northern Brazil*. Zootaxa, 3609: 85-90, 2013.
- 35 Trindade, F. T. T. ; Stabeli, Rodrigo Guerino ; Almeida, A. P. ; Facundo, Valdir Alves ; Silva, A. A. E. . *Copaifera multijuga ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity against Anopheles darlingi and Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 464-470, 2013.
- 36 Urzêda, M.A.; Marcussi, S.; Silva Pereira, L.L.; França, S.C.; Pereira, A.M.S.; Pereira, P.S.; Guimarães, C.L.S.; Calderon, L.A.; Stábeli, R.G.; Soares, A.M.; Couto, L.B. *Evaluation of the hypoglycemic properties of Anacardium humile aqueous extract. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013: 8, 2013.
- 37 Vieira, D.; Gauthier, M.; Nicolete, L.D.F.; Santos, A.O.; Picelli, C.; Honda, E.; Paranhos-Baccalà, G.; Vernet, G.; Villalobos-Salcedo, J.M. *Chronic hepatitis B liver disease in patients living in the Amazon region: S gene mutations and genotypes characterization*. World Journal of Cardiovascular Diseases, 03: 506-511, 2013.
- 38 Vieira, G.D.; Alves, T.C.; Silva, O.B.; Terassini, F.A.; Paniagua, N.C.; Teles, C.B.G. *Bactérias Gram positivas veiculadas por formigas em ambiente hospitalar de Porto Velho, Estado de Rondônia, Brasil*. Revista Pan-Amazônica de Saúde, 4: 33-36, 2013.
- 39 Vieira, L.F.; Magro, A.J.; Souza, B.; Fernandes, C.A.H.; Palma, M.S.; Rosa, J.C.; Fuly, A.L.; Cavalcanti, W.A.; Gallacci, M.; Fontes, M.R.M.; Calderon, L.A.; Stabeli, R.G.; Soares, A.M. *Biochemical, functional, structural and phylogenetic studies on Intercro, a new isoform phospholipase A2 from Crotalus durissus terrificus snake venom*. Biochimie, 2365-2375, 2013.
- 40 Zucchi, F.C.R.; Tsanaclis, A.M.C.; Moura-Dias, Q.; Silva, C.L.; Pelegrini-Da-Silva, A.; Neder, L.; Takayanagui, O.M. *Modulation of angiogenic factor VEGF by DNA-hsp65 vaccination in a murine CNS tuberculosis model*. Tuberculosis, pii: 1, 2013.

## 2012

- 01 Alfonso, H.L.; Amarilla, A.A.; Gonçalves, P.F.; Barros, M.T.; de Almeida, F.T.; Silva, T.R.; da Silva, E.V.; Nunes, M.T.; Vasconcelos, P.F.; Vieira, D.S.; Batista, W.C.; Bobadilla, M.L.; Vazquez, C.; Moran, M.; Figueiredo, L.T.; Aquino, V.H. *Phylogenetic relationship of Dengue virus type 3 isolated in Brazil and Paraguay and global evolutionary divergence dynamics*. Virology Journal, 9: 124, 2012.
- 02 Calderon, L.A.; Soares, A.M.; Stábeli, R.G. *Anuran antimicrobial peptides: an alternative for the development of nanotechnological based therapies for multi-drug-resistant infections*. Open Journal of Biochemistry and Biotechnology, 1: 1-11, 2012.
- 03 Calderon, L.A. (Organizador). *Chromatography - The Most Versatile Method of Chemical Analysis*. 1. ed. Croatia: InTech, 2012. 428p. ISBN 9789535108139
- 04 Cárdenas, R.N.; Stábeli, R.G.; Freire, I.A.; Silva, G.M. *Análisis comparativo del rendimiento físico de atletas con historia de anemia e infección por malaria y atletas saludables*. Lecturas Educación Física y Deportes, 169: 1, 2012.
- 05 Cárdenas, R.N.; Stábeli, R.G.; Freire, I.A.; Silva, G.M. *Evaluación nutricional de jugadores de baloncesto con historia de anemia y malaria y jugadores sanos*. Lecturas Educación Física y Deportes, 172: 1-8, 2012.
- 06 Cárdenas, R.N.; Stábeli, R.G.; Freire, I.A.; Silva, G.M. *Malaria y anemia: un análisis centrado en el deporte de alto rendimiento en una región endémica*. Lecturas Educación Física y Deportes, 175: 1-12, 2012.
- 07 Cárdenas, R.N.; Stábeli, R.G.; Skroch, K.S.; Freire, I.A. *El perfil nutricional de los atletas de taekwondo con historia de anemia y malaria y los atletas sanos*. Lecturas Educación Física y Deportes, 175: 1-10, 2012.
- 09 Ciancaglini, P.; Simão, A.M.S.; Bolean, M.; Millán, J.L.; Rigos, C.F.; Yoneda, J.S.; Colhone, M.C.; Stábeli, R.G. *Proteoliposomes in nanobiotechnology*. Biophysical Reviews, 01: 1-2, 2012.
- 10 Da Silva, M.L.; Marcussi, S.; Fernandes, R.S.; Pereira, P.S.; Januário, A.H.; França, S.C.; Da Silva, S.L.; Soares, A.M.; Lourenço, M.V. *Anti-snake venom activities of extracts and fractions from callus cultures of Sapindus saponaria*. Pharmaceutical Biology, 50: 366-375, 2012.
- 11 Da Silva, S.L.; Dias Júnior, C.A.; Baldasso, P.A.; Damico, D.C.S.; Carvalho, B.M.A.; Taranto, A.G.; Costa, G.A.; Oliveira, E.; Alberício, F.; Soares, A.M.; Marangoni, S.; Resende, R.R. *Vascular effects and electrolyte homeostasis of the natriuretic peptide isolated from Crotalus oreganus abyssus (north american grand canyon rattlesnake) venom*. Peptides, 36: 206-212, 2012.
- 12 Farias, J.D.; Santos, M.G.; França, A.K.; Delani, D.; Tada, M.S.; Casseb, A.A.; Simões, A.L.; Engracia, V. *Distribution of the CCR5delta32 allele (gene variant CCR5) in Rondônia, Western Amazonian region, Brazil*. Genetics and Molecular Biology, 35: 27-31, 2012.
- 13 Fernandes, C.A.H.; Godoy, E.; Pagotto, I.; Comparetti, E.; Huancahuire-Vega, S.; Ponce-Soto, L.A.; Costa, T.R.; Marangoni, S.; Soares, A.M.; Fontes, M.R.M. *Crystallization and preliminary x-ray diffraction analysis of three myotoxic phospholipases A2 from the Bothrops brazili venom*. Acta Crystallographica, 68: 935-938, 2012.
- 14 Godoi, M.M.I.M.; Engracia, V.; Takemoto, R.M. *Parasite host relationship between the tambaqui (Colossoma macropomum Cuvier 1818) and ectoparasites, collected from fish farms in the city of Rolim de Moura, State of Rondônia, Western Amazon, Brazil*. Acta Amazonica, 42: 515-524, 2012.
- 15 Gbotosho, G.O.; Folarin, O.A.; Bustamante, C.; Pereira-da-Siva, L.H.; Mesquita, E.; Sowunmi, A.; Zalis, M.G.; Oduola, A.M.J.; Happi, C.T. *Different patterns of PFCRT and PFMDR1 polymorphisms in P. falciparum isolates from Nigera and Brazil. The potential role of antimalaria drug selection pressure*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 86: 211-213, 2012.
- 16 Honda, E.R.; Zanchi, F.; Rios, K.; Lira, E.; Vieira, D.S.; Pereira-da-Silva, L.H.; De Paula, S.O. *Design and heterologous expression of dengue virus envelope protein (E) peptides and their use for serological diagnosis*. Journal of Virological Methods, 186: 55-61, 2012
- 17 Lacerda, M.V.G.; Mourao, M.P.G.; Alexandre, M.A.A.; Siqueira, A.M.; Magalhaes, B.M.I.; Martinez-Espinosa, F.E.; Santana Filho, F.S.; Brasil, P.; Ventura, Ana M.R.S.; Tada, M. S.; Couto, V.S.C.D.; Silva, A.R.; Silva, R. S.U.; Alecrim, M.G.C. *Understanding the clinical spectrum of complicated Plasmodium vivax malaria: a systematic review on the contributions of the Brazilian literature*. Malaria Journal, 11: 12, 2012.
- 18 Leoratti, F.M.S.; Trevelin, S.C.; Cunha, F.Q.; Rocha, B.C.; Costa, P.A.C.; Gravina, H.D.; Tada, M.S.; Pereira, D. B.; Golenbock, D.T.; Antonelli, L.R.V.; Gazzinelli, R.T. *Neutrophil paralysis in Plasmodium vivax malaria*. PLoS Neglected Tropical Diseases, 6: e1710, 2012.
- 19 Lima, J.P.S.; Pinheiro, M.L.B.; Santos, A.M.G.; Pereira, J.L.S.; Santos, D.M.F.; Barison, A.; Silva-Jardim, I; Costa, E.V. *Atividade antiLeishmania e citotóxica in vitro de Annona mucosa (Annonaceae)*. Revista Virtual de Química, 4: 692-702, 2012.

- Lima de Oliveira, C.H.; Moroso, T.B.; Souza Matos, F.H.; Veludo Watanabe, C.Y.; Egoavil Montero, C.J.; Carvalho Junior, C.A.T.; Milan, H.F.M.; Zanchi, F.B. *Mathematical Implementation of Interaction between Malaria and Immune System*. Lecture Notes in Computer Science. 1ed.: Springer Berlin Heidelberg, 100-110, 2012.
- 20 Nicolete, L.D.F.; Nicolete, R.; Haddad, R.; Azevedo, R.; Takayanagui, O.M.; Covas, D.T.; Kashima, S. *Upregulation of HSA-MIR-125b in HTLV-1 asymptomatic carriers and HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 107: 824-827, 2012.
- 21 Oliveira, C.H.L.; Moroso, T.B.; Matos, F.H.S.; Watanabe, C.Y.V.; Montero, C.J.E.; Carvalho Junior, C.A.T.; Milan, H.F.M.; Zanchi, F.B. *Mathematical implementation of interaction between malaria and immune system*. *Lecture Notes in Computer Science*, 7597: 100-110, 2012.
- 22 Paes-Gonçalves, H.; Facundo, V.A.; Santos, D.M.F.; Silva, A.G.C.; Ballico, L.J.; Lima, D.K.S.; Stábéli, R.G.; Silva-Jardim, I. *The leishmanicidal activity of a cyclopentenedione derivative isolated from the roots of a native amazonian pepper (Piper carniconnectivum)*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22: 1018-1023, 2012.
- 23 Pereira-da-Silva, L.H. *Crônicas Subversivas de um Cientista*, Rio de Janeiro, Vieira e Lent ed, 2012, 477 pg.
- 24 Soares, A.M. *Use of snake venom for biomedical researches and drug development*. *Open Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1: 1-4, 2012.
- 25 Silva, F.M.A.; Koolen, H.H.F.; Lima, J.P.S.; Santos, D.M.F.; Silva-Jardim, I.; ASouza, A.D.L.; Pinheiro, M.L.B. *Leishmanicidal activity of fractions rich in aporphine alkaloids from Amazonian Unonopsis species*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22: 368-1371, 2012.
- 26 Souza, C.A.T.; Kayano, A.M.; Setubal, S.S.; Pontes, A.S.; Furtado, J.L.; Kwasniewski, F.H.; Zaqueo, K.D.; Soares, A.M.; Stábéli, R.G.; Zuliani, J.P. *Local and systemic biochemical alterations induced by Bothrops atrox snake venom in mice*. *Journal of Venom Research*, 3: 28-34, 2012.
- 27 Stábéli, R.G.; Simões-Silva, R.; Kayano, A.M.; Gimenez, G. S.; Moura, A. A.; Caldeira, C. A. S.; Coutinho-Neto, A.; Zaqueo, K. D.; Zuliani, J.P.; Calderon, L.A.; Soares, A.M. Chapter 1 - Purification of Phospholipases A2 from American Snake Venoms. In: Calderon, L.A. (Org.). *Chromatography: the most versatile method of chemical analysis*. 1ed. Rijeka: InTech - Open Access Publisher, 01-34, 2012.
- 28 Tada, M.S.; Ferreira, R.G.M.; Katsuragawa, T.H.; Dalla-Martha, R.C.; Costa, J.D.N.; Albrecht, L.; Wunderlich, G.; Pereira-da-Silva, L.H. *Asymptomatic infection with Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax in the brazilian amazon basin: to treat or not to treat?* Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 107: 621-629, 2012.
- 29 Tatiana, F.; Stábéli, R.G.; Facundo, V.A.; Soares, L.H.G.; Silva, A.A. *Evaluation of larvicidal activity of the methanolic extracts of Piper alatabaccum branches and P. tuberculatum leaves and compounds isolated against Anopheles darlingi*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 1: 1, 2012.
- 30 Vasconcelos, M.; Pereira, D.B.; Parana, R.; Villalobos-Salcedo, J.M. *Clinic and laboratory analysis of patients with hepatitis delta in Amazon region, Brazil*. *Journal of Medicine and Medical Science*, 3: 263-269, 2012.

## 2011

- 01 Barbosa, S.C.; Stábéli, R.G.; Ciancaglini, P.; Cilli, E.M.; Dias, L.G. *Labaditin, a cyclic peptide with rich biotechnological potential: preliminary toxicological studies and structural changes in water and lipid membrane environment*. *Amino Acids*, 40: 135-144, 2011.
- 02 Batista, W.C.; Bifano, G.S.; Vieira, D.S.; Honda, E.R.; Pereira, S.S.; Tada, M.S. *Notification of the first isolation of Cacipacore virus in a human in the State of Rondônia, Brazil*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44: 528-530, 2011.
- 03 Calderon, L.A.; Silva, A.A.; Ciancaglini, P.; Stábéli, R.G. *Antimicrobial peptides from Phyllomedusa frogs: from biomolecular diversity to potential nanotechnologic medical applications*. *Amino Acids*, 40: 29-49, 2011.
- 04 Calderon, L.A.; Stábéli, R.G. *Anuran Amphibians: A Huge and Threatened Factory of a Variety of Active Peptides with Potential Nanobiotechnological Applications in the Face of Amphibian Decline*. In: Grillo, Oscar; Venora, Gianfranco. (Org.). *Changing Diversity in Changing Environment*.ed.Rijeka: InTech - Open Access Publisher, 7: 211-242, 2011.
- 05 Garcia, C.B.; Soares, L.M.; Silva, A.A.; Facundo, V.A.; Zuliani, J.P.; Stábéli, R.G.; Jardim, I.S. *Activity of the lupane isolated from Combretum leprosum against Leishmania amazonensis promastigotes*. *Journal of The Brazilian Chemical Society*, 22: 936-942, 2011.
- 06 Lay, L.C.; Nobre, T.M.; Colhone, M.C.; Zaniquelli, M.E.D.; Ciancaglini, P.; Stábéli, R.G.; Leite, J.R.S.A.; Zucolotto, V. *Dermaseptin 01 as antimicrobial peptide with rich biotechnological potential: study of peptide interaction with membranes containing Leishmania amazonensis lipid-rich extract and membrane models*. *Journal of Peptide Science*, 17: 700-707, 2011.
- 07 Leiguez, E.; Zuliani, J.P.; Cianciarullo, A.M.; Fernandes, C.M.; Gutiérrez, J.M.; Teixeira, C. *A group IIA-secreted phospholipase A2 from snake venom induces lipid body formation in macrophages: the roles of intracellular phospholipases A2 and distinct signaling pathways*. *Journal of Leukocyte Biology*, 90: 155-166, 2011.
- 08 Lucena, L.T.; Aguiar, L.O.; Bogoevich, A.C.; Azevedo, F.S.; Santos, A.P.; Bhadra, D.A.; Pereira, D.B.; Villalobos-Salcedo, J.M. *Dengue na Amazônia: aspectos epidemiológicos no Estado de Rondônia, Brasil, de 1999 a 2010*. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 2: 19-25, 2011.
- 09 Lima, E.R.; Moreira, L.S.; Facundo, V.A.; Silva-Jardim, I.; Teles, C.B.G. *Avaliação da bioatividade do extrato etanólico e triterpeno lupano obtidos de Combretum leprosum contra microorganismos*. *Saber Científico*, 3: 53-69, 2011.
- 10 Marcussi, S.; Santos, P.R.; Menaldo, D.L.; Silveira, L.B.; Santos-Filho, N.A.; Mazzi, M.V.; Da Silva, S.L.; Stábéli, R.G.; Greggi-Antunes, L.; Soares, A.M. *Evaluation of the genotoxicity of Crotalus durissus terrificus snake venom and its isolated toxins on human lymphocytes*. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 724: 59-63, 2011.
- 11 Medeiros, P.S.M.; Ducati, R.G.; Basso, L.A.; Santos, D.S.; Pereira-da-Silva, L.H. *Enzyme mechanism and slow-onset inhibition of Plasmodium falciparum enoyl-acyl carrier protein reductase by an inorganic complex*. *Enzyme Research*, 2011: 1-11, 2011.
- 12 Moutinho, P.R.; Gil, L.H.S.; Cruz, R.B.; Ribolla, P.E.M. *Population dynamics, structure and behavior of Anopheles darlingi in a rural settlement in the Amazon rainforest of Acre, Brazil*. *Malaria Journal*, 10: 174, 2011.
- 13 Nascimento, F.M.F.; Paula, A.C.N.; Monteiro, J.A.; Fernandes, C.F.C. *Farmacologia do sistema nervoso autônomo simpático*. In: Macedo, G.L.; Falcao, L.F.R. (Org.). *Farmacologia Aplicada em Medicina Intensiva*. 1ed. São Paulo: Gen/Roca, 2011, v. 1.
- 14 Nicolete, R.; Santos, D.F.; Faccioli, L.H. *The uptake of PLGA micro or nanoparticles by macrophages provokes distinct in vitro inflammatory response*. *International Immunopharmacology*, 11: 1557-1563, 2011.
- 15 Nicolete, R.; Nicolete, L.D.F. *Microencapsulated leukotrienes augment antimicrobial activity against infections*. *Journal of Cell Science & Therapy*, 5: 1-7, 2011.

- 16 Oliveira, C.Z.; Santos-Filho, N.A.; Menaldo, D.L.; Boldrini-Franca, J.; Giglio, J.R.; Calderon, L.A.; Stábéli, R.G.; Rodrigues, F.H.; Tasic, L.; Da Silva, S.L.; Soares, A.M. *Structural and functional characterization of a gamma-type phospholipase A2 inhibitor from Bothrops jararacussu snake plasma*. Current Topics in Medicinal Chemistry, 11: 2509-2519, 2011.
- 17 Ottobelli, I.; Facundo, V.A.; Zuliani, J.P.; Luz, C.C.; Brasil, H.O.B.; Militão, J.S.L.T.; Braz-Filho, R. *Estudo químico de duas plantas medicinais da amazônia: Philodendron scabrum k. krause (Araceae) e Vatairea guianensis aubl. (Fabaceae)*. Acta Amazonica, 41: 393-400, 2011.
- 18 Paulovich, F.V.; Maki, R.M.; Oliveira, M.C.F.; Colhone, M.; Santos, F.R.; Migliccio, V.; Ciancaglini, P.; Daghestanli, K.R.P.; Stábéli, R.G.; Perinoto, A.C.; Oliveira Jr, O.N.; Zucolotto, V. *Using multidimensional projection techniques for reaching a high distinguishing ability in biosensing*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 400: 1153-1159, 2011.
- 19 Pereira-da-Silva, L.H.; Katsuragawa, T.H.; Stábéli, R.G.; Katsuragawa, T.H. *Ciencia, tecnología e innovación para la Amazonía Brasileña: cuestionando las bases del modelo actual de desarrollo*. Interciencia, 36: 716-720, 2011.
- 20 Santos, J.I.; Cardoso, F.F.; Soares, A.M.; Silva, M.D.P.; Gallacci, M.; Fontes, M.R.M. *Structural and functional studies of a bothropic myotoxin complexed to rosmarinic acid: new insights into Lys49-PLA2 inhibition*. Plos One, 6: E28521, 2011.
- 21 Santos, D.F.; Bitencourt, C.S.; Gelfuso, G.M.; Pereira, P.A.T.; Souza, P.R.M.; Sorgi, C.A.; Nicolete, R.; Faccioli, L.H.; Nicolete, R. *Biodegradable microspheres containing leukotriene B4 and cell-free antigens from Histoplasma capsulatum activate murine bone marrow-derived macrophages*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 44: 580-588, 2011.
- 22 Setubal, S.S.; Pontes, A.S.; Furtado, J.L.; Kayano, A.M.; Stábéli, R.G.; Zuliani, J.P. *Effect of Bothrops alternatus snake venom on macrophage phagocytosis and superoxide production: participation of protein kinase C*. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases, 17: 430-441, 2011.
- 23 Teles, C.B.G.; Moreira, L.S.; Zuliani, J.P.; Facundo, V.A.; Sillva, A.A.; Stábéli, R.G.; Jardim, I.S. *Activity of the lupane isolated from Combretum leprosum against Leishmania amazonensis promastigotes*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 22: 936-942, 2011.
- 24 Vale, L.H.F.; Mendes, M.M.; Fernandes, R.S.; Costa, T.R.; Hage-Melim, L.I.; Sousa, M.A.; Hamaguchi, A.; Homs-Brandeburgo, M.I.; França, S.C.; Silva, C.H.; Pereira, P.S.; Soares, A.M.; Rodrigues, V.M. *Protective effect of Schizolobium parahyba flavonoids against snake venoms and isolated toxins*. Current Topics in Medicinal Chemistry, 11: 2566-2577, 2011.
- 25 Vieira, D.S.; Mora, M.V.A.; Botelho, L.; Carrilho, F.J.; Pinto, J.R.R.; Villalobos-Salcedo, J.M. *Distribution of hepatitis C virus (HCV) genotypes in patients with chronic infection from Rondônia, Brazil*. Virology Journal, 8: 165-170, 2011.
- 26 Vera, L.J.S.; Basano, S.A.; Camargo, J.S.A.A.; Franca, A.K.; Ferreira, R.G.M.; Casseb, A.A.; Medeiros, J.F.; Fontes, G.; Camargo, L.M.A. *Improvement of a PCR test to diagnose infection by Mansonella ozzardi*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 44(3): 380-382, 2011.
- 27 Zuliani, J.P.; Freitas, T.A.; Conceição, I.M.; Kwasniewski, F.H. *Tityus serrulatus venom increases vascular permeability in selected airway tissues in a mast cell-independent way*. Experimental and Toxicologic Pathology, 65: 229-234, 2011.

## 2010

- 01 Calderon, L.A.; Pereira-da-Silva, L.H.; Stábéli, R.G. *Biodiversidade, infraestrutura universitária e burocracia: os desafios da pesquisa bioprospectiva visando o desenvolvimento sustentado da Amazônica Legal*. Revista de Estudos Universitários, 36: 15-41, 2010.
- 02 Calderon, L.A.; Almeida-Filho, H.A.; Teles, R.C.L.; Medrano, F.J.; Bloch Jr, C.; Santoro, M.M.; Freitas, S.M. *Purification and structural stability of a trypsin inhibitor from Amazon Inga cylindrica [Vell.] Mart. seeds*. Brazilian Journal of Plant Physiology, p. 73-79, 2010.
- 03 Ferreira, M.G.; Kayano, A.M.; Silva-Jardim, I.; Zuliane, J.P.; Facundo, V.A.; Calderon, L.A.; Silva, A.A.E.; Stábéli, R.G. *AntiLeishmanial activity of 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl) propanoic acid purified from Amazonian Piper tuberculatum Jacq., Piperaceae, fruits*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 20: 1003-1006, 2010.
- 04 Katsuragawa, T.H.; Cunha, R.P.A.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Souza, D.C.A.; Oliveira, K.R.V.; Gil, L.H.S.; Batista, D.P.; Tada, M.S.; Pereira-da-Silva, L.H. *Alta soroprevalência de infecção pelos vírus das hepatites B e C na região do alto Rio Madeira, Porto Velho, Rondônia, Brasil*. Revista Pan-Amazônica de Saúde, 1: 91-96, 2010.
- 05 Katsuragawa, T.H.; Gil, L.H.S.; Tada, M.S.; Silva, A.A.; Costa, J.D.N.; Araujo, M.S.; Escobar, A.L.; Pereira-da-Silva, L.H.; Baylis, M. *The Dynamics of Transmission and Spatial Distribution of Malaria in Riverside Areas of Porto Velho, Rondônia, in the Amazon Region of Brazil*. Plos One, 5: e9245, 2010.
- 06 Paraná, R.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Pereira, D.B.; Dantas, T. *Hepatite Delta no Brasil*. Brazilian Journal of Infectious Diseases, 1: 7-14, 2010.
- 07 Perinoto, A.C.; Maki, R.M.; Colhone, M.C.; Santos, F.R.; Migliccio, V.; Daghestanli, K.R.; Stábéli, R.G.; Ciancaglini, P.; Paulovich, F.V.; Oliveira, M.C.F.; Zucolotto, V. *Biosensors for Efficient Diagnosis of Leishmaniasis: Innovations in Bioanalytics for a Neglected Disease*. Analytical Chemistry, 82: 9763-9768, 2010.
- 08 Romero, L.; Marcussi, S.; Marchi-Salvador, D.P.; Silva, F.P.; Fuly, A.L.; Stábéli, R.G.; Da Silva, S.L.; González, J.; Monte, A.D.; Soares, A.M. *Enzymatic and structural characterization of a basic phospholipase A2 from the sea anemone Condylactis gigantea*. Biochimie, 92: 1063-1071, 2010.
- 09 Santos, A.O.; Mora, M.V.A.; Botelho, L.; Vieira, D.S.; Pinto, J.R.R.; Carrilho, F.J.; Honda, E.R.; Villalobos-Salcedo, J.M. *Characterization of Hepatitis B virus (HBV) genotypes in patients from Rondônia, Brazil*. Virology Journal, 7: 12, 2010.
- 10 Sousa, T.N.; Tarazona-Santos, E.M.; Wilson, D.J.; Madureira, A.P.; Falcão, P.R.K.; Fontes, C.J.F.; Gil, L.H.S.; Ferreira, M.U.; Carvalho, L.H.; Brito, C.F.A. *Genetic variability and natural selection at the ligand domain of the Duffy binding protein in Brazilian Plasmodium vivax populations*. Malaria Journal, 9: 334-345, 2010.
- 11 Zanchi, F.B.; Cáceres, R.; Stábéli, R.G.; Azevedo Jr, W.F. *Molecular dynamics studies of a hexameric purine nucleoside phosphorylase*. Journal of Molecular Modeling, 16: 543-550.

## 2009

- 01 Aquino, V.H.; Amarilla, A.A.; Afonso, H.L.; Batista, W.C.; Figueiredo, L.T.M. *New Genotype of Dengue Type 3 Virus Circulating in Brazil and Colombia Showed a Close Relationship to Old Asian Viruses*. Plos One, 4: 1-8, 2009.
- 02 Calderon, L.A.; Silva-Jardim, I.; Zuliani, J.P.; Silva, A.A.; Ciancaglini, P.; Pereira-da-Silva, L.H.; Stábéli, R.G. *Amazonian biodiversity: a view of drug development for Leishmaniasis and malaria*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 20: 1011-1023, 2009.
- 03 Calderon, L.A.; Delaix-Zaqueo, K.; Zaqueo, K.D.; Serrano, R.P.; Messias, M.R.; Cardozo-Filho, J.L.; Diniz-Sousa, R.; Holanda, R.J.; Rego, T.B.; Stábéli, R.G. *Amphibia, Anura, Leptodactylidae, Leptodactylus chaquensis: Distribution*

extension and geographic distribution map. Check List, 5: 425-427, 2009.

- 04 Calderon, L.A.; Messias, M.R.; Serrano, R.O.P.; Zaqueo, K.D.; Souza, E.S.; Nienow, S.S.; Cardozo-Filho, J.L.; Delaix-Zaqueo, K.; Stábéli, R.G. *Amphibia, Anura, Phyllomedusinae, Phyllomedusa azurea: distribution extension and geographic distribution map*. Check List, 5: 317-319, 2009.
- 05 Colhone, M.C.; Nobre, T.M.; Zaniquelli, M.E.D.; Stábéli, R.G.; Ciancaglini, P. *Incorporation of antigenic GPI-proteins from Leishmania amazonensis to membrane mimetic systems: Influence of DPPC/cholesterol ratio*. Journal of Colloid and Interface Science, 333: 373-379, 2009.
- 06 Cruz, R.B.M.; Gil, L.H.S.; Silva, A.A.; Araujo, M.S.; Katsuragawa, T.H. *Mosquito abundance and behavior in the influence area of the hydroelectric complex on the Madeira River, Western Amazon, Brazil*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 103: 1174-1176, 2009.
- 07 Franklin, B.S.; Parroche, P.; Ataíde, M.A.; Lauw, F.; Ropert, C.; De Oliveira, R.B.; Pereira, D.; Tada, M.S.; Nogueira, P.; Pereira-da-Silva, L.H.; Bjorkbacka, H.; Golenbock, D.T.; Gazzinelli, R.T. *Malaria primes the innate immune response due to interferon- induced enhancement of toll-like receptor expression and function*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106: 5789-5794, 2009.
- 08 Gil, L.H.S.; Araujo, M.S.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Camargo, L.M.A.; Ozaki, L.S.; Fontes, C.J.F.; Ribolla, P.E.M.; Katsuragawa, T.H.; Cruz, R.M.; Silva, A.A.; Pereira-da-Silva, L.H. *Species structure of sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna in the Brazilian western Amazon*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 104: 955-959, 2009.
- 09 Katsuragawa, T.H.; Cunha, R.P.A.; Souza, D.C.A.; Gil, L.H.S.; Cruz, R.B.M.; Silva, A.A.; Tada, M.S.; Pereira-da-Silva, L.H. *Malária e aspectos hematológicos em moradores da área de influência dos futuros reservatórios das hidrelétricas de Santo Antônio e Jirau, Rondônia, Brasil*. Cadernos de Saúde Pública, 25: 1486-1492, 2009.
- 10 Lopes, S.C.P.; Blanco, Y.C.; Justo, G.Z.; Nogueira, P.A.; Rodrigues, F.L.S.; Goelnitz, U.; Wunderlich, G.; Facchini, G.; Brocchi, M.; Duran, N.; Costa, F.T.M. *Violacein Extracted from Chromobacterium violaceum inhibits Plasmodium growth in vitro and in Vivo*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 53: 2149-2152, 2009.
- 11 Pereira, D.B.; Oliveira, K.R.V.; Moreira, R.; Oba, I.T.; Compri, A.P.; Lemos, M.F.; Vasconcelos, M.; Villalobos-Salcedo, J.M. *Accuracy of serology and molecular diagnosis tests for HBV and HCV in Chronic Renal Failure patients on hemodialysis, Porto Velho, Brazil*. Revista Ciências Médicas e Biológicas, 8: 237-244, 2009.
- 12 Santos, L.E.R.; Colhone, M.C.; Daghanastanli, K.R.P.; Stábéli, R.G.; Silva-Jardim, I.; Ciancaglini, P. *Lipid microspheres loaded with antigenic membrane proteins of the Leishmania amazonensis as a potential biotechnology application*. Journal of Colloid and Interface Science, 340: 112-118, 2009.
- 13 Zuliani, J.P.; Kayano, A.M.; Zaqueo, K.D.; Coutinho, A.; Soares, A.M.; Sampaio, S.V.; Stábéli, R.G. *Snake venom L-amino acid oxidases: Some consideration about their functional characterization*. Protein and Peptide Letters, 16: 908-912, 2009.

## 2008

- 01 Angelo, P.C.; Nunes-Silva, C.G.; Brígido, M.M.; Azevedo, J.S.; Assunção, E.N.; Sousa, A.R.; Patrício, F.J.; Rego, M.M.; Peixoto, J.C.; Oliveira, W.P.Jr.; Freitas, D.V.; Almeida, E.R.; Viana, A.M.; Souza, A.F.; Andrade, E.V.; Acosta, P.O.; Batista, J.S.; Walter, M.E.; Leomil, L.; Anjos, D.A.; Coimbra, R.C.; Barbosa, M.H.; Honda, E.; Pereira, S.S.; Silva, A.; Pereira, J.O.; Silva, M.L.; Marins, M.; Holanda, F.J.; Abreu, R.M.; Pando, S.C.; Gonçalves, J.F.; Carvalho, M.L.; Leal-Mesquita, E.R.; da Silveira, M.A.; Batista, W.C.; Atroch, A.L.; França, S.C.; Porto, J.I.; Schneider, M.P.; Astolfi-Filho, S.; *Brazilian Amazon Consortium for Genomic Research (REALGENE). Brazilian Amazon Consortium for Genomic Research (REALGENE). Guarana (Paullinia cupana var. sorbilis), an anciently consumed stimulant from the Amazon rain forest: the seeded-fruit transcriptome*. Plant Cell Reports, 27: 117-24, 2008.
- 02 Behr, C.; Pereira-da-Silva, L.H. *Vaccination – Protozoa*. In: Mehlhorn, H., Encyclopedia of Parasitology. 1 ed. Berlin; Springer, 2008. 2000p. ISBN 3540489940.
- 03 Casseb, A.A.; França, A.K.; Lafontaine, R.M.; Tada, M.S.; Silva, W.A.; Simões, A.L.; Engracia, V. *Distribution of hemoglobin phenotypes in four different districts of Porto Velho, Rondônia, Brazil*. Human Biology, 80: 573-579, 2008.
- 04 Costa, T.R.; Menaldo, D.L.; Oliveira, C.Z.; Santos-Filho, N.A.; Teixeira, S.S.; Nomizo, A.; Fuly, A.L.; Monteiro, M.C.; De Souza, B.M.; Palma, M.S.; Stábéli, R.G.; Sampaio, S.V.; Soares, A.M. *Myotoxic phospholipases A2 isolated from Bothrops brazili snake venom and synthetic peptides derived from their C-terminal region: Cytotoxic effect on microorganism and tumor cells*. Peptides, 29: 1645-1656, 2008.
- 05 Facundo, V.A.; Polli, A.R.; Rodrigues, R.V.; Militao, J.S.; Stábéli, R.G.; Cardoso, C.T. *Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de P. tuberculatum Jacq. e das raízes de P. hispidum H.B.K.* Acta Amazonica, 38: 733-742, 2008. Facundo, V.A.; Rios, K.; Soares, L.M.; Militao, J.S.; Stábéli, R.G.; Silveira, E.R. *Two new cycloartanes from Combretum leprosum Mart. (Combretaceae)*. Revista Latinoamericana de Química, 36: 76-82, 2008.
- 07 Katsuragawa, T.H.; Gil, L.H.S.; Tada, M.S.; Pereira-da-Silva, L.H. *Endemias e epidemias na Amazônia. Malária e doenças emergentes em áreas ribeirinhas do Rio Madeira. Um caso de escola*. Estudos Avançados, 22: 111-141, 2008.
- 08 Mariuba, L.A.; Orlandi, P.P.; Medeiros, M.; Holanda, R.; Grava, A.; Nogueira, P.A. *Improving the production of the denatured recombinant N-terminal domain of rho-tryptophan-associated protein 2 from a Plasmodium falciparum target in the pathology of anemia in falciparum malaria*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 103: 522-527, 2008.
- 09 Nogueira, M.B.; Stella, V.; Bordignon, J.; Batista, W.C.; Borba, L.; Pereira-da-Silva, L.H.; Hoffmann, F.G.; Probst, C.M.; Santos, C.N.D. *Evidence for the co-circulation of dengue virus type 3 genotypes III and V in the Northern region of Brazil during the 2002-2004 epidemics*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 103: 483-488, 2008.
- 10 Sant'Ana, C.D.; Mazzi, M.; Ticli, F.K.; Fontes, M.R.M.; Giglio, J.R.; Sampaio, S.V.; Stábéli, R.G.; Soares, A.M. *Molecular Characterization of BjussuSP-I, a new thrombin-like enzyme with procoagulant and kallikrein-like activity isolated from Bothrops jararacussu snake venom*. Biochimie, 90: 500-507, 2008.
- 11 Sant'Ana, C.D.; Ticli, F.K.; Oliveira, L.L.; Giglio, J.R.; Rechia, C.G.V.; Fuly, A.L.; Araujo, H.S.; Stábéli, R.G.; Soares, A.M.; Sampaio, S.V. *BjussuSP-I: A new thrombin-like enzyme isolated from Bothrops jararacussu snake venom. Comparative Biochemistry and Physiology. A, Molecular & Integrative Physiology*, 151: 443-454, 2008.
- 12 Silva, T.; Nogueira, P.A.; Magalhães, G.F.; Grava, A.F.; Pereira-da-Silva, L.H.; Orlandi, P.P. *Characterization of Shigella spp. by antimicrobial resistance and PCR detection of ipa genes in an infantile population from Porto Velho (Western Amazon region), Brazil*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 103: 731, 2008.
- 13 Vieira, D.S.; Bifano, G.S.; Honda, E.R.; Tada, M.S.; Batista, W.C. *Isolation and Identification of dengue virus serotype 3*. Virus Reviews and Research, 13: 23-29, 2008.

## 2007

- 01 Angella, A.F.; Gil, L.H.S.; Pereira-da-Silva, L.H.; Ribolla, P.E.M. *Population structure of the malaria vector Anopheles darlingi in Rondônia, Brazilian Amazon, based on mitochondrial DNA*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 102: 953-958, 2007.
- 02 Dalla-Martha, R.C.; Tada, M.S.; Ferreira, R.G.M.; Pereira-da-Silva, L.H.; Wunderlich, G. *Microsatellite characterization of Plasmodium falciparum from symptomatic and non-symptomatic infections from the Western Amazon reveals the existence of non-symptomatic infection-associated genotypes*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 102: 293-298, 2007.
- 03 França, S.C.; Kashima, S.; Roberto, P.G.; Ticli, F.K.; Pereira, P.S.; Astolfi-Filho, S.; Stábéli, R.G.; Magro, A.J.; Fontes, M.R.M.; Sampaio, S.V.; Soares, A.M. *Molecular approaches for structural characterization of Bothrops L-amino acid oxidases with antiprotozoal activity: cDNA cloning, comparative sequence analysis, and molecular modeling*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 355: 302-306, 2007.
- 04 Gil, L.H.S.; Tada, M.S.; Katsuragawa, T.H.; Ribolla, P.E.M.; Pereira-da-Silva, L.H. *Urban and suburban malaria in Rondônia (Brazilian Western Amazon) II: perennial transmissions with high anopheline densities are associated with human environmental changes*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 102: 271-276, 2007.
- 05 Magalhães, G.F.; Nogueira, P.A.; Grava, A.F.; Penati, M.; Pereira-da-Silva, L.H.; Orlandi, P.P. *Rotavirus and adenovirus in Rondônia*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 102: 555-557, 2007.
- 06 Mazzi, M.V.; Magro, A.J.; Amui, S.F.; Oliveira, C.Z.; Ticli, F.K.; Stábéli, R.G.; Fuly, A.L.; Rosa, J.C.; Braz, A.S.K.; Fontes, M.R.M.; Sampaio, S.V.; Soares, A.M. *Molecular characterization and phylogenetic analysis of Bjuusu MP-I: A RGD-P-III class hemorrhagic metalloprotease from Bothrops jararacussu snake venom*. Journal of Molecular Graphics & Modelling, 26: 69-85, 2007.
- 07 Silva, A.A.; Varanda, E.M.; Rassini, J.B. *Weather, cultivar and density-dependent processes influence on aphid in alfalfa*. Bragantia, 66: 285-290, 2007.
- 08 Stábéli, R.G.; Soares, A.M.; Belebóni, R.O.; Fontes, M.R.M.; Giglio, J.R. *Snake venom phospholipases A2 inhibitors: Medicinal chemistry and therapeutic potential*. Current Topics in Medicinal Chemistry, 7: 743-756, 2007.
- 09 Stábéli, R.G.; Sant'Ana, C.D.; Ribeiro, P.H.; Costa, T.R.; Ticli, F.K.; Pires, M.G.; Nomizo, A.; Albuquerque, S.; Malta-Neto, N.R.; Marins, M.; Sampaio, S.V.; Soares, A.M. *Cytotoxic L-amino acid oxidase from Bothrops moojeni: Biochemical and functional characterization*. International Journal of Biological Macromolecules, 41: 132-140, 2007.
- 10 Tada, M.S.; Mesquita, E.A.; Dalla-Martha, R.C.; Pepelascov, R.M.R.R.; Katsuragawa, T.H.; Pereira-da-Silva, L.H. *Urban malaria in the Brazilian Western Amazon Region I. High prevalence of asymptomatic carriers in an urban riverside district is associated with a high level of clinical malaria*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 102: 263-269, 2007.
- 11 Vieira, D.S.; Honda, E.R.; Pereira, S.S.; Bifano, G.S.; Tada, M.S.; Batista, W.C. *Characterization of dengue virus serotype 1 in epidemics in Porto Velho, Rondônia, in 2001-2003*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 40: 268-271, 2007.

## 2006

- 01 Aquino, V.H.; Anatriello, E.; Silva, E.V.; Vasconcelos, P.F.C.; Vieira, D.S.; Batista, W.C.; Bobadilla, M.L.; Vasquez, C.; Moran, M.; Figueiredo, L.T.M. *Molecular epidemiology of dengue type 3 virus in Brazil and Paraguay*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 75: 910-915, 2006.
- 02 Merino, E.F.; Fernandez-Becerra, C.; Durham, A.M.; Ferreira, J.E.; Tumilasci, V.F.; d'Arc-Neves, J.; da Silva-Nunes, M.; Ferreira, M.U.; Wickramarachchi, T.; Udagama-Randeniya, P.; Handunnetti, S.M.; Del Portillo, H.A. *Multi-character population study of the vir subtelomeric multigene superfamily of Plasmodium vivax, a major human malaria parasite*. Molecular and Biochemical Parasitology, 2: 1113-1131, 2006.
- 03 Nogueira, P.A.; Alves, F.P.; Fernandez-Becerra, C.; Pein, O.; Santos, N.R.; Pereira-da-Silva, L.H.; Camargo, E.P.; del Portillo, H.A. *A reduced risk of infection with Plasmodium vivax and clinical protection against malaria are associated with antibodies against the N-terminus but not the C-terminus of merozoite surface protein 1*. Infection & Immunity, 74: 2726-2733, 2006.
- 04 Oliveira, K.R.V.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Paraná, R. *Co-infecção HBV/HDV*. Gazeta Médica da Bahia, 76: 64-68, 2006.
- 05 Orlandi, P.P.; Magalhães, G.F.; Matos, N.B.; Silva, T.; Penatti, M.; Nogueira, P.A.; Pereira-da-Silva, L.H. *Etiology of diarrheal infections in children of Porto Velho (Rondônia, Western Amazon region, Brazil)*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 39: 507-517, 2006.
- 06 Paraná, R.; Kay, A.; Molinet, F.; Viana, S.; Silva, L.K.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Tavaresneto, J.; Lobato, C.; Matteoni, L.; Oliveira, A.; Tauil, P.; Trepo, C. *HDV Genotypes in the Western Brazilian Amazon Region: A preliminary report*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 75: 475-479, 2006.
- 07 Silva, A.A.; Varanda, E.M.; Barosela, J.R. *Resistance and susceptibility of alfalfa (Medicago sativa L.) cultivars to the aphid Therioaphis maculata (Homoptera: Aphididae): insect biology and cultivar evaluation*. Insect Science, 13: 55-60, 2006.
- 08 Stábéli, R.G.; Amui, S.F.; Sant'Ana, C.D.; Pires, M.G.; Nomizo, A.; Monteiro, M.C.; Giglio, J.R.; Guerra-Sá, R.; Fontes, M.R.M.; Soares, A.M. *Bothrops moojeni myotoxin-ii, a Lys49-phospholipase A2 homologue: An example of function versatility of snake venom proteins*. Comparative Biochemistry and Physiology. B, Biochemistry & Molecular Biology, 142: 371-381, 2006.
- 09 Vieira, F.M.J.; Figueiredo, C.R.; Soares, M.C.; Weckx, L.Y.; Santos, O.; Magalhães, G.; Orlandi, P.; Weckx, L.L.M.; Pignatari, S. *Prevalência de Streptococcus pyogenes em orofaringe de crianças que frequentam creches: estudo comparativo entre diferentes regiões do país*. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, 72: 587-591, 2006.
- 10 Villalobos-Salcedo, J.M.; Rodriguez, J.A.; Costa, J.D.N.; Pereira-da-Silva, L.H. *Evaluation de la resistencia in vivo de la malaria a cloroquina em el estado de Rondônia (Amazonia Ocidental) Brasil*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 12: 129-136, 2006.

## 2005

- 01 Alves, F.; Gil, L.H.S.; Marrelli, M.T.; Ribolla, P.E.; Camargo, E.P.; Pereira-da-Silva, L.H. *Asymptomatic carriers of Plasmodium spp. as infection source for malaria vector mosquitoes in the Brazilian Amazon*. Journal of Medical Entomology, 42: 777-779, 2005.
- 02 Basso, L.A.; Pereira-da-Silva, L.H.; Fett-Neto, A.G.; Azevedo Junior, W.F.; Moreira, Í.S.; Palma, M.S.; Calixto, J.B.; Astolfi-Filho, S.; Santos, R.R.; Soares, M.B.P.; Santos, D.S. *The use of biodiversity as source of new chemical entities against defined molecular targets for treatment of malaria, tuberculosis, and T-cell mediated diseases: a review*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 100: 575-606, 2005.



- 03 Bleves, S.; Soscia, C.; Nogueira-Orlandi, P.; Lazdunski, A.; Filloux, A. *Quorum Sensing Negatively Controls Type III Secretion Regulon Expression in Pseudomonas aeruginosa PAO1*. Journal of Bacteriology, 187: 3898-3902, 2005.
- 04 Cecchini, A.L.; Marcussi, S.; Silveira, L.B.; Borja-Oliveira, C.R.; Rodrigues-Simioni, L.; Amara, S.; Stábéli, R.G.; Giglio, J.R.; Arantes, E.C.; Soares, A.M. *Biological and enzymatic activities of Micrurus sp. (Coral) snake venoms*. Comparative Biochemistry and Physiology. A, Molecular & Integrative Physiology, 140: 125-134, 2005.
- 05 Heckmann, M.I.O.; Mendes-Junior, C.T.; Tada, M.S.; Santos, M.G.; Cabello, G.M.K.; Salzano, F.M.; Simoes, A.L.; Engracia, V. *CFTR Haplotype Distribution in the Brazilian Western Amazonian Region*. Human Biology, 77: 499-508, 2005.
- 06 Sá, J.M.; Nomura, T.; Neves, J.D.; Baird, J.K.; Wellems, T.E.; del Portillo, H.A. *Plasmodium vivax: allele variants of the mdr1 gene do not associate with chloroquine resistance among isolates from Brazil, Papua, and monkey-adapted strains*. Experimental Parasitology, 109: 256-9, 2005.
- 07 Silva, A.A.; Varanda, E.M.; Primavesi, A.C. *Effect of the inherent variation in the mineral concentration of alfalfa cultivars on aphid populations*. Bragantia, 64: 233-239, 2005.
- 08 St Stábéli, R.G.; Magalhaes, L.M.; Araujo, H.S.; Oliveira, E.B. *Antibodies to a fragment of L-amino acid oxidase cross-react with functionally distinct snake venom components*. Toxicon, 46: 308-317, 2005.
- 09 Tadda, M.S.; Marques, R.P.; Martha, R.C.D.; Costa, J.D.N.; Rodrigues, J.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Wunderlich, G.; Pereira-da-Silva, L.H. *Urban malaria in the Amazon Region: High prevalence of non symptomatic carriers in highly endemic riverine urban locality of the Brazilian western*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 35: 20-21, 2005.
- 10 Tickli, F.K.; Hage, L.J.S.; Cambraia, R.S.; Pereira, P.S.; Magro, A.J.; Fontes, M.R.M.; Stábéli, R.G.; Giglio, J.R.; França, S.C.; Soares, A.M.; Sampaio, S.V. *Rosmarinic acid, a new snake venom phospholipase A2 inhibitor from Cordia verbenacea (Boraginaceae): Antiserum action potentiation and molecular interaction*. Toxicon, 46,(3): 318-327, 2005.
- 11 Wunderlich, G.; Alves, F.P.; Gölnitz, U.; Tada, M.S.; Camargo, E.P.; Pereira-da-Silva, L.H. *Rapid turnover of Plasmodium falciparum var gene transcripts and genotypes during natural non-symptomatic infections*. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 47: 195-201, 2005.

## 2004

- 01 Katsuragawa, T.H.; Gil, L.H.S.; Stábile, R.G.; Pires, M.G.; Bonini-Domingos, C.R. *Avaliação da incidência da deficiência de G6PD e perfil hematológico em indivíduos de uma região de Rondônia*. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 26: 268-273, 2004.
- 02 Mazzi, M.V.; Marcussi, S.; Carlos, G.B.; Stábéli, R.G.; Franco, J.J.; Ticli, F.K.; Cintra, A.C.O.; França, S.C.; Soares, A.M. *A New hemorrhagic metalloprotease from Bothrops jararacussu snake venom: Isolation and biochemical characterization*. Toxicon, 44(2): 215-223, 2004.
- 03 Stábéli, R.G.; Marcussi, S.; Carlos, G.B.; Pietro, R.C.; Selistre-de-Araújo, H.S.; Giglio, J.R.; Oliveira, E.B.; Soares, A.M. *platelet aggregation and antibacterial effects of a L-amino acid oxidase purified from bothrops alternatus snake venom*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 12(11): 2881-2886, 2004.
- 04 Soares, A.M.; Sestito, W.P.; Marcussi, S.; Stábéli, R.G.; Andrião-Escarso, S.H.; Cunha, O.A.; Vieira, C.A.; Giglio, J.R. *Alkylation of myotoxic phospholipase A2 in Bothrops moojeni venom: A promising approach to an enhanced antivenom production*. International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 36(2): 258-270, 2004.

## 2003

- 01 Almeida Cunha, R.P.; Alves, F.P.; Rocha, A.M.C.; Rocha, G.A.; Camargo, L.M.A.; Nogueira, P.O.P.; Camargo, E.P.; Queiroz, D.M.M. *Prevalence and risk factors associated with Helicobacter pylori infection in native populations from Brazilian Western Amazon*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 97: 382-386, 2003.
- 02 Beiguelman, B.; Alves, F.P.; Moura, M.M.; Engracia, V.; Nunes, A.C.S.; Heckmann, M.I.O.; Ferreira, R.G.M.; Pereira-da-Silva, L.H.; Camargo, E.P.; Krieger, H. *The association of genetic markers and malaria infection in the Brazilian Western Amazonian region*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 98: 455-460, 2003.
- 03 Engracia, V.; Leite, M.M.B.S.; Pagotto, R.C.; Zucoloto, S.; Barbosa, C.A.A.; Mestriner, M.A. *Expression of class u glutathione-S-transferase in human liver and its association with hepatopathies*. American Journal of Medical Genetics, 123A: 257-260, 2003.
- 04 Gil, L.H.S.; Basano, S.; Souza, A.A.; Silva, M.G.S.; Barata, I.; Ishikawa, E.A.; Camargo, L.M.A.; Shaw, J.J. *Recent observations on the sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna of the State of Rondônia, Western Amazonia, Brazil: the importance of Psychodopygus davisii as a vector of zoonotic cutaneous Leishmaniasis*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 98: 751-755, 2003.
- 05 Gil, L.H.S.; Alves, F.P.; Zieler, H.; Salcedo, J.M.; Durlacher, R.R.; Cunha, R.P.; Tada, M.S.; Camargo, L.M.; Camargo, E.P.; Pereira-da-Silva, L.H. *Seasonal malaria transmission and variation of anopheline density in two distinct endemic areas in Brazilian Amazonia*. Journal of Medical Entomology, 40: 636-641, 2003.
- 06 Soares, A.M.; Marcussi, S.; Stábéli, R.G.; França, S.C.; Giglio, J.R.; Ward, R.J.; Arantes, E.C. *Structural and functional analysis of BmjMIP, a Phospholipase A2 myotoxin inhibitor protein*. Biological and Biophysical Research Communications, 302: 193-200, 2003.
- 07 Pouvelle, B.; Traoré, B.; Nogueira, P.A.; Pradines, B.; LéPolard, C.; Gysin, J. *Modeling of Plasmodium falciparum-infected erythrocyte cytoadhesion in microvascular conditions: chondroitin-4-sulfate binding, A competitive phenotype*. The Journal of Infectious Diseases, 187: 292-302, 2003.

## 2002

- 01 Alves, F.P.; Pereira-da-Silva, L.H.; Camargo, E.P.; Krieger, H. *High prevalence of asymptomatic Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum infections in native amazonian populations*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 66: 641-646, 2002.
- 02 Camargo, L.M.A.; Moura, M.M.; Engracia, V.; Pagotto, R.C.; Basano, S.A.; Pereira-da-Silva, L.H.; Camargo, E.P.; Beiguelman, B.; Krieger, H. *A rural community in a Brazilian Western Amazonian region: Some demographic and epidemiological patterns*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 97(2): 193-195, 2002.
- 03 Feitosa, M.F.; Alves, F.P.; Moura, M.M.F.; Engracia, V.; Pagotto, R.C.; Pereira-da-Silva, L.H.; Camargo, E.P.; Beiguelman, B.; Krieger, H. *A Major Genetic Mechanism Involved in Resistance to Malaria in Western Amazonian*. International Journal of Human Genetics, 2: 77-80, 2002.

- 04 Ferreira, R.G.M.; Moura, M.M.; Engracia, V.; Pagotto, R.C.; Alves, F.P.; Camargo, L.M.A.; Pereira-da-Silva, L.H.; Camargo, E.P.; Beiguelman, B.; Krieger, H. *Ethnic Admixture Composition of Two Western Amazonian Populations*. Human Biology, 74: 607-614, 2002.
- 05 Nogueira, P.A.; Wunderlich, G.; Tada, M.S.; Costa, J.D.N.; Menezes, M.J.; Scherf, A.; Pereira-da-Silva, L.H. *Plasmodium falciparum: Rleptoire of expressed var genes and adhesion properties to endothelial receptors of clinical isolates from patients in Rondônia (Brazilian Western Amazon region)*. Experimental Parasitology, 101: 111-120, 2002.
- 06 Pereira-da-Silva, L.H.; Engracia, V. *O desafio da malaria: o caso brasileiro e o que se pode esperar dos progressos da era genômica*. Ciência & Saúde, 7: 49-63, 2002.

## 2001

- 01 Alves, F.P.; Alecrim, M.G. Pereira-da-Silva, L.H.; Zalis, M.G. *Analysis of the PfcRT k76T mutation in Plasmodium falciparum isolates from the Amazon Region in Brazil*. Journal of Infectious Diseases, 183: 1832-1833, 2001.
- 02 Behr, C.; Pereira-da-Silva, L.H. Anti-protozoan vaccines, In: Mehlhorn, H. *Encyclopedic Reference of Parasitology: Diseases, Treatment, Therapy, 1 ed. Berlin; Springer, 2001. 675p. ISBN 3540668292*.
- 03 Nogueira, P.A.; Wunderlich, G.; Pereira-da-Silva, L.H. *Variant antigens encoded by the var family of Plasmodium falciparum are multifunctional macromolecules*. Research Immunology, 152: 141-147, 2001.
- 04 Orlandi, P.P.; Magalhaes, G.F.; Alves, F.P.; Durlacher, R.R.; Pereira-da-Silva, L.H. *Enteropathogen associated with diarrheal disease in infants in poor urban areas of Porto Velho, Rondônia (Western Amazon Region, Brazil)*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 96: 621-625, 2001.
- 05 Portillo, H.; Fernández-Becerra, C.; Bowman, S.; Preuss, M.; Sánchez, C. P.; Schneider, N. K.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Rajandream, M.A.; Harris, D.; Pereira-da-Silva, L.H.; Barrel, B.; Lanzer, M. *A superfamily of variant genes encoded in the subtelomeric region of Plasmodium vivax*. Nature, 410: 839-842, 2001.

# **Relatório de Atividades 2013 e 2014 das Subunidades Laboratoriais\***

## ***Subunidades de Pesquisa***

**Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde**  
Por Andreimar Martins Soares e Leonardo de Azevedo Calderon

**Plataforma de Bioensaios de Malária e Leishmaniose**  
Por Carolina Bioni Garcia Teles

**Laboratório de Bioinformática Aplicada à Saúde**  
Por Fernando Berton Zanchi

**Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Saúde**  
Por Roberto Nicolete

**Laboratório de Engenharia de Anticorpos**  
Por Carla Freire Celedônio Fernandes

**Laboratório de Entomologia**  
Por Jansen Fernandes Medeiros

**Laboratório de Epidemiologia Genética**  
Por Ricardo Godoi Mattos Ferreira

**Laboratório de Genética Humana**  
Por Andonai Krauze de França

**Laboratório de Imunologia Celular Aplicada à Saúde**  
Por Juliana Pavan Zuliani

**Laboratório de Microbiologia**  
Por Najla Benevides Matos

**Plataforma Técnica**  
Por Deusilene Souza Vieira

## ***Subunidades de Pesquisa, Diagnóstico Especializado e Atendimento Refenciado***

**Ambulatório Especializado em Hepatites Virais de Rondônia**  
Por Juan Miguel Villalobos Salcedo

**Laboratório de Virologia**  
Por Weber Cheli Batista

**Laboratório de Epidemiologia**  
Por Tony Hiroshi Katsuragawa

**Laboratório de Saúde Pública**  
Por Dhelio Batista Pereira e Mauro Sugiro Tada

## ***Subunidades de Apoio aos Laboratórios***

**Gestão da Qualidade dos Laboratórios**  
Por Felipe Weissaupt Stegun

**Plataforma de Criação e Experimentação Animal**  
Por André de Abreu Rangel Aguirre

# CENTRO DE ESTUDOS DE BIOMOLÉCULAS APLICADAS À SAÚDE - CEBio



## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1 Pesquisadores Principais

Dr. Andreimar Martins Soares (Pesquisador Principal-Chefe a partir de 11/2012)

<http://lattes.cnpq.br/1721501040953897>

Dr. Leonardo de Azevedo Calderon (Pesquisador Principal - Chefe até 11/2012)

<http://lattes.cnpq.br/6910026933721706>

Dr. Rodrigo Guerino Stábéli (Pesquisador Principal - Líder do Grupo CEBio)

<http://lattes.cnpq.br/9479420856670926>

Dr. Antonio Coutinho Neto (Pesquisador Associado - a partir de junho de 2013)

<http://lattes.cnpq.br/2544969941465695>

Dr. Anderson Makoto Kayano (Pesquisador Associado - a partir de junho de 2013)

<http://lattes.cnpq.br/9089138319657407>

Dr. César Luiz da Silva Guimarães (Pesquisador Associado - a partir de junho de 2013)

<http://lattes.cnpq.br/7061870658928953>

Dr. Leandro Soares Moreira Dill (Pesquisador Associado - a partir de junho de 2014)

<http://lattes.cnpq.br/4667838828373016>

Dr. Rudson de Jesus Holanda (Pesquisador Associado - a partir de junho de 2014)

<http://lattes.cnpq.br/3277542005309012>

### 1.2 Equipe

Anderson Makoto Kayano, Doutor-PGBIOEXP, UNIR

Angelo L. Covatti Terra, Doutorando-PGBIOEXP, UNIR

Antônio Coutinho Neto, Doutor-PGBIOEXP, UNIR

César Luiz S. Guimarães, Doutor-PGBIOEXP, UNIR

Cleópatra Alves da Silva Caldeira, Mestranda-PGBIOEXP, UNIR e Doutoranda-BIONORTE

Edailson de Alcantara Corrêa, Doutorando-BIONORTE

Kayena Delaix Zaqueo, Doutoranda-BIONORTE

Kaynara Delaix Zaqueo, Doutoranda-BIONORTE

Leandro S. Moreira-Dill, Doutor-PGBIOEXP, UNIR, Técnico Fiocruz Rondônia

Nelice M. B. Serbino, Pós-Doc-CNPq

Nestor Angelo D. Mendes, Doutorando-BIONORTE

Rafaela Diniz Sousa, Doutoranda-PGBIOEXP, UNIR

Rodrigo Simões-Silva, Doutorando-BIONORTE, Técnico Fiocruz Rondônia

Rudson de Jesus Holanda, Doutor-PGBIOEXP, UNIR

Andrea A. de Moura, Mestre-PGBIOEXP, UNIR

Carina Godoy Picelli, Mestre-PGBIOEXP, UNIR

Claudia Siqueira de Oliveira, Mestranda-PGBIOEXP, UNIR

Fernanda Cristina Barros de Lacerda, IC sem bolsa

Dennhize dos Santos Reis da Silva, IC sem bolsa

Ana Rafaela Carvalho Monte, IC sem bolsa  
Ana Fidelina Gómez Garay, bolsista DTI  
Amy Nicole Grabner, Mestranda-PGBIOEXP  
Aleff Ferreira Francisco, PIBIC-Fac. São Lucas  
Gizeli Silva Gimenez, Mestre-PGBIOEXP, UNIR  
José Roniele do N. Monteiro, Mestre-PGBIOEXP, UNIR  
Juliana Conceição Sobrinho, Mestranda-PGBIOEXP, UNIR  
Tiago Bispo Rego, Mestrando PGBIOEXP, UNIR  
Charles Boeno, PIBIC-Fac. São Lucas  
Diana da Silva Butzke, PIBIC-Fiocruz  
Flávia Cristina Amaro, PIBIC-Fiocruz  
George Azevedo de Oliveira, PIBIC-UNIR  
Jéssica Amaral Lopes, PIBIC-UNIR  
Marjorie Jéssica Nascimento, PIBIC-Fac. São Lucas  
Mauro Valentino Paloschi, PIBIC-UNIR  
Marcos André Nunes, Estágio-CEBio, UNIR  
Raíres Ferreira Rodrigues, PIBIC-Fac. São Lucas  
Silvana Dantas da Silva, PIBIC-Fiocruz  
Wallace Reis Melo, PIBIC-Fiocruz  
Tainara Maiane Rodrigues da Silva, PIBIC-Fiocruz  
Paulo Brum Rezende, PIBIC-UNIR  
Marcos André Nunes, Estagiário  
Marcela Bernini Ramos, IC sem bolsa  
Keila de Assis Vitorino, IC sem bolsa  
Jorge Javier Alfonso Ruiz Dias, Mestrando-PGBIOEXP  
Joice Cristiny de Oliveira Santos, IC sem bolsa  
João Vitor Medeiros, IC sem bolsa  
Jeane do Nascimento Moraes, Mestranda-PGBIOEXP  
Geisiane Araujo, IC sem bolsa  
Andréa Fagundes Grava, Doutor-BIONORTE  
Anderson Maciel de Lima, IC sem bolsa  
Anaíta Pedersoli, Estagiária  
Amanda Alcântara da Silva, IC sem bolsa  
Alzemir Ribeiro dos Santos Ferreira, IC sem bolsa

### **1.3. Colaborações Internacionais**

Aristides Quintero Rueda, Universidad Autonoma de Chiriqui, Panamá  
Fernando Alberício, Institute for Research in Biomedicine (IRB), Barcelona, Spain  
Luiz Shozo Osaki, Virginia Commonwealth University, USA  
Marcelo Jacobs-Lorena, Johns Hopkins University, USA  
Maria Celeste Vega Gomez, CEDIC, Assunción, Paraguay

### **1.4. Colaborações Nacionais**

Juliana Pavan Zulinani, Fiocruz Rondônia  
Fernando Zanchi, Fiocruz Rondônia  
Roberto Nicolete, Fiocruz Rondônia  
Patrícia Soares, Fiocruz Rondônia  
Najla Benevides Matos, Fiocruz Rondônia  
Carolina Bioni, Fiocruz Rondônia  
Cleberson Freitas Fernandes, Embrapa Rondônia  
Luciana Gatto, Embrapa Rondônia  
Fábio Barbieri, Embrapa Rondônia  
Pietro Cincaglini, FFCLRP-USP, Ribeirão Preto/SP  
Mario Sérgio Palma, UNESP - Rio Claro/SP  
José Roberto Giglio, FMRP-USP, Ribeirão Preto/SP  
Spartaco Astolfi Filho, UFAM, Manaus/AM  
Carlos Bloch Júnior, EMBRAPA, Brasília/DF  
Jenifer Saffi, UFRGS, Porto Alegre/RS  
Rosane Silva, UFRJ, Rio de Janeiro/RJ

Antoniana Krettli, FIOCRUZ, Belo Horizonte/MG  
Bartira R. Bergmann, UFRJ, Rio de Janeiro/RJ  
Marcelo M. Santoro, UFMG - Belo Horizonte/MG  
Gustavo H. M. F. Souza, Waters - São Paulo/SP  
Valdir Facundo, UNIR - Porto Velho/RO  
José F. C. Gonçalves, INPA, Manaus/AM  
Paulo S. Bernarde, UFAC, Cruzeiro do Sul/AC  
Silvana Marcussi, UFLA, Lavras/MG  
Marta Chagas Monteiro, UFPA, Belém/PA  
André Lopes Fuly, UFF, Niterói/RJ  
Marcos Roberto M. Fontes, UNESP, Botucatu/SP  
Márcia Gallacci, UNESP, Botucatu/SP  
Auro Nomizo, FCFRP-USP, Ribeirão Preto/SP  
Luiz Fernando M. Izidoro, UFU, Ituiutaba/MG  
Veridiana Melo Rodrigues, UFU, Uberlândia/MG  
Saulo L. da Silva, UFSJ, Ouro Branco/MG  
Benedito Barraviera, UNESP, Botucatu/SP  
Daniela Priscila M. Salvador, UFPB, João Pessoa/PB

## 2. INFRAESTRUTURA

O CEBio dispõe de 170m<sup>2</sup> distribuídos entre dois ambientes laboratoriais principais com bancadas onde estão integrados uma sala para espectrometria de massa, outra para ressonância plasmônica de superfície, um corredor longo onde estão alocados os freezers, liofilizadores, evaporadores centrífugos e estufas, escritório da chefia, sala de pesquisadores, sala para alunos de pós-graduação e iniciação científica, além de uma copa. Os seguintes equipamentos estão disponibilizados no CEBio, em ordem alfabética: Capela de exaustão de gases grande; Centrífuga MiniSpin, Eppendorf; Centrífuga 515, Eppendorf; Centrífuga refrigerada 5408 R, Eppendorf; Chuveiro de emergência e EPS; Cromatógrafo de Alta Performance (HPLC) Sistema Akta Purifier, GE Healthcare: 3 (três) unid.; Cromatógrafo de Ultra Alta Performance UHPLC com detector óptico "Photodiode Array", Shimadzu; Cromatógrafo de Ultra Alta Performance UHPLC, Shimadzu: 2 (duas) unid.; Espectrofotômetro Biospectronic, GE Healthcare; Espectrofotômetro infravermelho (FTIR), Shimadzu; Espectrofotômetro Nanodrop, GE Healthcare; Espectrômetro de Massa MALDI-TOF/TOF AXIMA TOF2, Shimadzu Biotech – Kratos Scientific; Evaporador Centrífugo (Speed-vac), Labconco 2 (duas) unid.; Fluxo Laminar NB2; Geladeiras (sete) e freezers -20 oC (dois); Leitor automatizado de ELISA e lavador de placas; Liofilizador de Bancada LD-3000C, Terroni; Liofilizador de Bancada LT-1000, Terroni; Micro-sequenciador de proteínas e peptídeos PPSQ33A, Shimadzu; Ressonância Plasmônica de Superfície Biacore T200, GE Healthcare; Sistema de documentação de géis de eletroforese, GE Healthcare; Sistema de purificação de água Milli Q, Millipore; Sistema robotizado de amostragem em placa Maldi ACCUSPOT, Shimadzu; Sistema MidJet de concentração de amostras, GE Healthcare; Sistemas completos para eletroforese mono, bidimensional e blotting, GE Healthcare; Thermostatic Circulator, Modelo: Multitemp III 115 VAC, Marca: GE Healthcare; Ultracentrifuga de Alta Performance CP80WX, Hitachi; Ultrafreezer IULT 335D, Indrel; Além de Banhos termostatizados, estufas, autoclave de bancada, agitadores, ultrasson, bomba de vácuo.

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de Pesquisa

Purificação, caracterização bioquímica, estrutural, e biotecnológica de proteínas e peptídeos da biodiversidade Amazônica e alvos moleculares de doenças tropicais negligenciadas. Realizar a purificação, caracterização físico-química, e estrutural de proteínas e peptídeos presentes em sementes de leguminosas e venenos de animais da Amazônia com potencial aplicação no desenvolvimento bionanotecnológico e farmacêutico de novas terapias para doenças tropicais, infecciosas e degenerativas.

### 3.2. PROJETOS

#### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

**Banco de Venenos e Secreções da Amazônia Sul Ocidental e Oriental: ampliação e caracterização molecular para a geração do conhecimento bioprospectivo à biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de novos fármacos.** A proposta possui o objetivo de gerar subsídios importantes no conhecimento bioprospectivo e biotecnológico tendo-se como base a biodiversidade de venenos e secreções da floresta amazônica, nos biomas presentes nos estados de Rondônia, Acre e Tocantins. A floresta amazônica representa a maior diversidade de espécies de répteis e anfíbios do território brasileiro. No entanto, o conhecimento científico, nos campos da ecologia, biogeografia e, sobretudo, da composição molecular e dos efeitos fisiológicos dos componentes isolados de venenos e secreções da maioria absoluta destas espécies é desconhecido. Principalmente nas regiões de estudo a serem propostas nesta demanda. Moléculas ativas

provindas da natureza como metabólitos secundários de origem vegetal, peptídeos e toxinas animais, principalmente as de baixa massa molecular, representam a base tecnológica para o desenho de novos fármacos através da síntese química combinatorial. Apesar do Brasil possuir a maior biodiversidade do planeta, não existe nenhum relatado na literatura de proposta de fármaco original gerado genuinamente pelo conhecimento biotecnológico brasileiro centrado em sua biodiversidade. A formação de rede para incrementar o banco de venenos e secreções, além de proporcionar o aumento do conhecimento científico prospectivo de espécies de serpentes e anfíbios, muitas delas desconhecidas, também criará subsídios químicos através de análises estruturais da composição dos venenos e secreções coletadas utilizando-se de técnicas de genômica e proteômica, para investidas no processamento biotecnológico para desenvolvimento de protótipo de produto. Portanto, a proposta apresentada a seguir, pode ser considerada inovadora por buscar associar os conhecimentos ecológicos prospectivos, gerados por expedições científicas em pontos estratégicos, e fisiopatológicos dos venenos e secreções coletados, gerados por proteômica funcional provenientes das análises do banco de dados de moléculas purificadas ou semi-purificadas. Responsável: Rodrigo Guerino Stábeli. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Convênio 550854/2010-0.

**Métodos moleculares e clássicos aplicados à identificação e caracterização de novos compostos químicos ativos contra malária e leishmaniose a partir da biodiversidade.** O projeto tem o objetivo de identificar, isolar e produzir, em nível experimental, protótipos de novas drogas derivadas de moléculas de origem vegetal, animal e microbiana oriundas da biodiversidade brasileira, ou especificamente sintetizadas, ativas contra alvos moleculares de vias metabólicas particulares de parasitas da malária e das leishmanioses humanas e de seus respectivos vetores insetos. O material de partida para o screening serão extratos de plantas, secreções de animais e metabólitos secretados por micorganismos endofíticos ou *Actinomyces* raros e também compostos produzidos ou modificados por síntese química. A atividade anti-parasitária e/ou anti-vetorial dos produtos detectados e purificados por ressonância plasmônica de superfície (SPR) ou purificados classicamente, será analisada diretamente em modelos de culturas celulares e em infecções experimentais in vivo, quando ensaiada contra os parasitas, ou contra os vetores respectivos em suas diferentes fases de desenvolvimento. Paralelamente serão realizados experimentos de screening virtual, docking e dinâmica molecular para identificação de substâncias capazes de interagir com o centro ativo das enzimas alvo, os compostos identificados serão adquiridos de coleções já disponíveis e testados quanto as suas reais capacidades de inibição das enzimas e em casos positivos na diminuição/eliminação da parasitemia em ensaios em cultura de células e em ensaios em culturas ou em animais. Os protótipos eleitos servirão igualmente de base para síntese de compostos químicos derivados que também serão testados quanto suas atividades anti-parasitárias. Em resumo, o objetivo final do projeto é gerar pelo menos um protótipo para cada alvo (anti-malárico e anti-leishmaniose), devidamente estudado em fase pré-clínica e registrado em patente que possa ser encaminhado a ensaios clínicos futuramente, gerando conhecimento e difusão tecnológica com viabilidade econômica para o país. Responsável: Luiz Hildebrando Pereira da Silva. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Convênio 550934/2010-3.

**Moléculas com potencial antifúngico em sementes, folhas e casca de espécies arbóreas: Bioprospecção, uso e sustentabilidade da flora amazônica.** O projeto intitulado Moléculas com potencial antifúngico em sementes, folhas e casca de espécies arbóreas: Bioprospecção, uso e sustentabilidade da flora amazônica tem aptidão multi e interdisciplinar, reunindo competências desde áreas aplicadas das ciências florestais (melhoramento florestal, manejo florestal, patologia florestal) com ênfase no uso e na sustentabilidade de espécies arbóreas, até profissionais das áreas de fitopatologia, fisiologia vegetal, bioquímica, química, botânica e biotecnologia. Portanto, enquadrando de maneira coerente as linhas de atuação de todos os profissionais (17 doutores e 13 estudantes de mestrado e doutorado) envolvidos na proposta, elaborou-se um projeto com foco na prospecção e na sustentabilidade de produtos florestais a partir da busca sistemática de biomoléculas que estejam relacionadas à fitoproteção durante processos fisiológicos vitais para as espécies (mobilização de metabólitos primários durante a germinação de sementes e produção de metabólitos secundários, como óleos essenciais nas folhas e cascas) e/ou analisando processos bioquímicos específicos como a síntese de proteínas de defesa (estudos sobre lectinas e inibidores de proteinases em sementes) de espécies arbóreas da flora Amazônica que possam resultar em bioprodutos (obtenção de moléculas com atividade antifúngica), além de contribuir para o entendimento de bioprocessos com ênfase na conservação e no uso da diversidade florestal (germinação de sementes, produção de óleos essenciais, cultivo in vitro, proteção fitossanitária de plantas em viveiro). Com esta perspectiva, no âmbito do projeto principal acima mencionado, três subprojetos foram elaborados conjuntamente visando objetivo comum de prospectar potenciais moléculas antifúngicas em diferentes tecidos vegetais de espécies arbóreas da Amazônia. Responsável: José Francisco de Carvalho Gonçalves. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Convênio 554307/2010-3

## b. Projetos Aprovados

**Alavancagem e modernização da Infraestrutura Científica e Tecnológica na Amazônia Sul-Ocidental Rondônia.** O presente projeto visa dotar o CEBio de mais moderna tecnologia de espectrometria de massa (*hybrid Qq-oaTOF mass spectrometer*) para que este grupo de pesquisa possa caracterizar peptídeos bioativos, proteínas e produtos naturais da Biodiversidade Amazônica. Contempla a aquisição de um Espectrômetro de Massa *Xevo G2S QTof Waters* para sequenciamento de peptídeos e caracterização de proteínas, além de um *Zetasizer Nano ZS* para a mensuração do tamanho, massa molecular e potencial zeta e partículas dispersas em solução. Responsável: Leonardo de Azevedo Calderon. Instituição de Fomento: Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP. Ref.: 0200/12. PROINFRA Valor Apoiado: R\$ 1.366.570,00.

**Prospecção, caracterização e prototipagem de agentes de ação antimalárica e inseticida a partir da biodiversidade da Amazônia Legal.** O presente projeto tem o objetivo identificar, isolar e produzir, em nível experimental, protótipos de novas drogas derivadas de moléculas de origem vegetal, animal e microbiana oriundas da biodiversidade brasileira, ou especificamente sintetizadas, ativas contra alvos moleculares de vias metabólicas particulares de parasitas da malária humana e de seus respectivo vetor inseto, o *Anopheles darlingi*. O material de partida para o *screening* serão extratos de plantas, secreções e venenos de animais, metabólitos secretados por microrganismos endofíticos e actinomicetos oriundos em sua maioria da biodiversidade amazônica, e também compostos produzidos ou modificados por síntese química. A atividade anti-parasitária e/ou anti-vetorial dos produtos desenvolvidos, sejam estes obtidos por purificação clássica, detectados e isolados por ressonância plasmônica de superfície (SPR), ou sintetizados, serão analisados *in vitro* na forma livre ou nanoencapsulados utilizando-se modelos de culturas celulares, e em infecções experimentais *in vivo*, quando testados contra os parasitas, ou contra os vetores respectivos em suas diferentes fases de desenvolvimento. Paralelamente serão realizados experimentos de *screening* virtual, utilizando ferramentas de *docking* e dinâmica molecular para identificação de substâncias capazes de interagir com o centro ativo de enzimas identificadas com alvos validados, onde serão utilizadas estruturas moleculares conhecidas depositadas em bancos de dados disponíveis, que serão adquiridas por fornecedores comerciais para realização de testes quanto suas reais capacidades de inibição das enzimas e potencial diminuição/eliminação da parasitemia em ensaios *in vitro* e *in vivo*. Os protótipos serão desenvolvidos a partir das moléculas líderes identificadas que servirão de base para a síntese de compostos químicos variantes que também serão testados quanto suas atividades anti-parasitárias. Em resumo, o objetivo da presente proposta é gerar protótipos anti-maláricos e inseticidas devidamente estudados em fase pré-clínica e registrados em patentes que possam ser encaminhados a ensaios de caracterização toxicológica e futuros testes clínicos, gerando conseqüentemente conhecimento e difusão tecnológica com viabilidade econômica para o país. Responsável: Rodrigo Guerino Stábeli. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Auxílio financeiro.

**Bioprospecção da diversidade marinha como ferramenta para identificação e caracterização de biomoléculas com potencial atividade antimicrobiana, antifúngica e inseticida. REDE MarAtivo:** microorganismos marinhos como fonte biotecnológica na produção de moléculas bioativas. A proposta associada tem o objetivo e a finalidade de identificar, isolar e produzir, em nível de laboratório, protótipos de novos fármacos derivados de moléculas de origem microbiológica da biodiversidade marinha brasileira, com especial ênfase no bioma nordestino, ativas contra alvos moleculares de vias metabólicas específicas de bactérias enteropatogênicas, parasitas da leishmaniose e malária humana e de seus vetores, além da busca de inibidores de toxinas de venenos de serpentes, sejam eles alvos definidos preliminarmente a partir de análises por bioinformática, ou identificados a posteriori, a partir de bioensaios dirigidos bioquimicamente. A atividade microbicida, antifúngica e/ou anti-vetorial (inseticida) dos produtos isolados e identificados por ressonância plasmônica de superfície (SPR) em tandem com espectrometria de massa, ou por fracionamento e purificação clássica serão analisados diretamente em modelos celulares, em modelos de infecção experimental, e *in vivo*, contra o vetor anophelino em suas fases larvária e adulta. As moléculas líderes identificadas servirão de base para orientar ensaios pré-clínicos, a síntese de compostos químicos dirigidos, e a busca de produtos em bancos de dados de moléculas sintéticas comercialmente disponíveis que serão utilizadas para a elaboração de protótipos clássicos ou nanoestruturados. Em relação aos produtos isolados empiricamente por seleção direta a partir de extratos ativos e purificação dos produtos responsáveis, proceder-se-á inicialmente a ensaios experimentais dirigidos para definir o alvo molecular utilizando-se de técnicas proteômicas. Responsável: Andreimar Martins Soares. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Auxílio financeiro.

## c. Projetos de Pesquisa Encerrados

**Implantação do Banco de Venenos de Anuros do IPEPATRO para a prospecção da biodiversidade molecular da anurofauna da Amazônia Ocidental visando a descoberta de novos peptídeos antimicrobianos.** Compôr um Banco Venenos de Anuros liofilizados e congelados a -86 o C com aproximadamente duzentas espécies do Acre e Rondônia e purificar e caracterizar peptídeos bioativos. Responsável: Leonardo de Azevedo Calderon. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Convênio CT-Amazônia/CNPq 575669/2008-0.



**Prospecção de peptídeos e proteínas da anurofauna amazônica visando à identificação de candidatos para o desenvolvimento de novos antiparasitários.** Descrição: As secreções cutâneas das glândulas granulosas e paratoides de diversas espécies de anuros têm sido reveladas como interessantes fontes de bioativos com atividade antiparasitária (peptídeos e esteroides), no entanto, a grande maioria dos resultados tem sido obtidos com animais africanos, europeus, asiáticos, e alguns americanos, em especial, dos biomas cerrado e mata atlântica. Os animais do bioama amazônico ainda foram pouco estudados quanto à perspectiva de descoberta de moléculas com potencial para serem candidatos para o desenvolvimento de novos antiparasitários, entre outras potenciais aplicações para a saúde humana. Nesta perspectiva, propomos desenvolver a caracterização de peptídeos antimicrobianos anuros pertencentes a espécies e gêneros ainda não pesquisados. Considerando que a pressão evolutiva exercida pelas relações presa-predador e hospedeiro-parasita são potencializadas no bioma amazônico, acreditamos que há grande potencial para descrição de novas de famílias peptídeos antimicrobianos, além de novas especializações em peptídeos de famílias conhecidas quando encontrados em animais deste bioma. Devido às condições técnicas proporcionadas pela aquisição do MALDI-TOF/TOF AXIMA TOF2 (Shimadzu/Kratus UK), Ressonância Plasmônica Biocore T100 e dois AKTA Purifier (GE Healthcare) pelo CEBio, somadas a obtenção das autorizações emitidas pelos órgãos ambientais reguladores no presente ano, para a execução da coleta e acesso ao patrimônio genético dos anuros nos Estados de Rondônia e Acre, propomos no presente projeto o apoio a uma sólida equipe de bolsistas formada para a realização de coletas e identificação de anuros, estudo do peptidoma de espécies amazônicas, síntese de peptídeos caracterizados a realização de ensaios de atividade de peptídeos contra *Leishmania amazonensis* e *Plasmodium falciparum*, visando a caracterização da atividade biológica, além do fortalecimento do programa de mestrado e doutorado em Biologia Experimental. Responsável: Leonardo de Azevedo Calderon. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Convênio UNIVERSAL/CNPq 483546/2010-0.

**Capacitação de Recursos Humanos em Bioprospecção e Biotecnologia para o Desenvolvimento da Amazônica Sul Ocidental.** Formar pesquisadores qualificados na utilização de ferramentas bioquímicas, biofísicas, moleculares e prospectivas no desenvolvimentos de projetos de desenvolvimento biotecnológico da biodiversidade amazônica. Expandir o Banco Venenos de Animais da Amazônia com amostras de venenos liofilizados e congelados a -86 °C de anuros e serpentes de espécies do Acre e Rondônia. Purificar e caracterizar peptídeos bioativos das espécies de *phyllomedusas amazônicas* (*P. atelopoides*, *P. palliata*, *P. vaillantii*, e *P. tarsius*) que não possuem a descrição do peptídeos existentes em suas secreções cutâneas. Adicionalmente, purificar e caracterizar peptídeos bioativos de amostras provenientes de outras espécies pertencentes as famílias *Bufo*idae, *Dendrobatidae*, *Hylidae*, *Leptodactylidae* e *Microhylidae* presentes no Banco de Venenos de Animais da Amazônia incluindo peptídeos de veneno de *Bothrops atrox*. Submeter peptídeos purificados e amostras de veneno bruto para realização de testes antimicrobianos contra *Leishmania spp in vitro* e *P. falciparum*. Responsável: Leonardo de Azevedo Calderon. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Convênio: CNPq 556898/2009-5.

## 4. PUBLICAÇÕES

### 4.1 Artigos Publicados em Revistas Indexadas

- 01 SETUBAL, S. S.; PONTES, A. S.; FURTADO, J. L.; XAVIER, C. V.; SILVA, F. L.; IZIDORO, L. F. M.; SOARES, A. M.; STÁBELI, R. G.; ZULIANI, J.P. Action of two phospholipase A2 purified from *Bothrops alternatus* snake venom on macrophages. *Biochemistry (Moscow)*, v. 78, p. 194 - 203, 2013.
- 02 COUTINHO-NETO, A.; CALDEIRA, C.A.S.; ZAQUEO, K.D.; KAYANO, A.M.; SIMÕES-SILVA, R.; SOUZA, G.H.M.F.; ZULIANI, J.P.; SOARES, A. M.; STÁBELI, R. G.; CALDERON, L.A. ESI-MS/MS Identification of a Bradykinin-Potentiating Peptide from Amazon *Bothrops atrox* Snake Venom Using a Hybrid Qq-oaTOF Mass Spectrometer. *Toxins*, v. 5, p. 327 - 335, 2013.
- 03 SA, P. C.; NORONHA-MATOS, J. B.; TIMOTEO, M. A.; FERREIRINHA, F.; MARQUES, P.; SOARES, A. M.; CARVALHO, C.; CAVALCANTI, W. L. G.; GALLACCI M. Bothropstoxin-I reduces evoked acetylcholine release from rat motor nerve terminals: Radiochemical and real-time video-microscopy studies. *Toxicon (Oxford)*, v. 61, p. 16 - 25, 2013.
- 04 MARCUSSI, S.; STÁBELI, R. G.; SANTOS-FILHO, N. A.; MENALDO, D. L.; SILVA PEREIRA, L. L.; ZULIANI, J. P.; CALDERON, L. A.; DA SILVA, S. L.; GREGGI ANTUNES, L. M.; SOARES, A. M. Genotoxic effect of *Bothrops* snake venoms and isolated toxins on human lymphocyte DNA. *Toxicon (Oxford)*, v. 65, p. 9 - 14, 2013.
- 05 SALVADOR, G. H. M.; FERNANDES, C. A. H.; MAGRO, A. J.; MARCHI-SALVADOR, D. P.; CAVALCANTE, W. L. G.; FERNANDEZ, R. M.; GALLACCI, M.; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, C. L. P.; FONTES, M. R. M. Structural and Phylogenetic Studies with MjTX-I Reveal a Multi-Oligomeric Toxin - a Novel Feature in Lys49-PLA2s Protein Class. *Plos One*, v. 8, p. e60610, 2013.
- 06 SILVEIRA, L. B.; MARCHI-SALVADOR, D. P.; SANTOS-FILHO, N. A.; SILVA, F. P.; MARCUSSI, S.; FULY, A. L.; NOMIZO, A.; DA SILVA, S. L.; STÁBELI, R. G.; ARANTES, E. C.; SOARES, A. M. Isolation and expression of a hypotensive and anti-platelet acidic phospholipase A2 from *Bothrops moojeni* snake venom. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (Print)*, v. 73, p. 35 - 43, 2013.

- 07 URZÉDA, M. A.; MARCUSSI, S.; SILVA PEREIRA, L. L.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S.; PEREIRA, P. S.; DA SILVA, S. L.; GUIMARÃES, C. L. S.; CALDERON, L. A.; STÁBELI, R. G.; SOARES, A. M.; COUTO, L. B. Evaluation of the Hypoglycemic Properties of *Anacardium humile* Aqueous Extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (Online)*, v. 2013, p. 1 - 8, 2013.
- 08 SALVADOR, G. H. M.; CAVALCANTE, W. L. G.; DOS SANTOS, J. I.; GALLACCI, M.; SOARES, A. M.; FONTES, M. R. M. Structural and functional studies with myotoxin II from *Bothrops moojeni* reveal remarkable similarities and differences compared to other catalytically inactive phospholipases A2-like. *Toxicon (Oxford)*, v. 72, p. 52 - 63, 2013.
- 09 CARVALHO, B.M.A.; SILVA, L.; CARVALHO, L.; SOARES, A. M.; MINIM, L.; da SILVA, S.L. Microcalorimetric study of the adsorption of lactoferrin in supermacroporous continuous cryogel with immobilized Cu<sup>2+</sup> ions. *Journal of Chromatography (Print)*, v. 1312, p. 1 - 9, 2013.
- 10 CARVALHO, B. M. A.; MARCUSSI, S.; MARANGONI, S.; STABELI, R. G.; CALDERON, L. A.; SOARES, A. M.; da SILVA, S. L.; MARCHI-SALVADOR, D. P. Snake venom PLA2s inhibitors isolated from Brazilian plants: Synthetic and natural molecules. *Journal of Biomedicine and Biotechnology (Print)*, v. 2013, p. 1 - 8, 2013.
- 11 VIEIRA, L. F.; MAGRO, A. J.; FERNANDES, C. A. H.; SOUZA, B. M.; CAVALCANTE, W. L. G.; PALMA, M. S.; ROSA, J. C.; FULY, A. L.; FONTES, M. R. M.; GALLACCI, M.; BUTZKE, D. S.; CALDERON, L. A.; STABELI, R. G.; GIGLIO, J. R.; SOARES, A. M. Biochemical, functional, structural and phylogenetic studies on Intercro, a new isoform phospholipase A2 from *Crotalus durissus terrificus* snake venom. *Biochimie (Paris. Print)*, v. 95, p. 2365 - 2375, 2013.
- 12 DELAIX-ZAQUEO, K.; ZAQUEO, K. D.; STABELI, R. G.; ZULIANI, J. P.; SOARES, A. M.; CALDERON, L. A. Amphibia, Anura, Microhylidae, Gastrophryinae, *Elachistocleis Bicolor* Guérin Méneville, 1838: Distribution Extension and Geographic Distribution Map. *Global Journal of Medical Research*, v. 13, p. 15 - 18, 2013.
- 13 RUEDA, A. Q.; RODRIGUÉZ GONZALÉZ, I. I.; ARANTES, E. C.; SETUBAL, S. S.; CALDERON, L. A.; ZULIANI, J. P.; STABELI, R. G.; SOARES, A. M. Biochemical Characterization, Action on Macrophages, and Superoxide Anion Production of Four Basic Phospholipases A2 from Panamanian *Bothrops asper* Snake Venom. *Journal of Biomedicine and Biotechnology (Print)*, v. 2013, p. 1 - 10, 2013.
- 14 SETUBAL, S. S.; PONTES, A. S.; NERY, N. M.; BASTOS, J. S. F.; CASTRO, O. B.; PIRES, W. L.; ZAQUEO, K. D.; CALDERON, L. A.; STÁBELI, R. G.; SOARES, A. M.; ZULIANI, J. P. Effect of *Bothrops bilineata* snake venom on neutrophil function. *Toxicon (Oxford)*, v. 76, p. 143 - 149, 2013.
- 15 FERNANDES, C. A. H.; COMPARETTI, E.; BORGES, R. J.; HUANCHAHUIRE-VEGA, S.; PONCE-SOTO, L. A.; MARANGONI, S.; SOARES, A. M.; FONTES, M. R. M. Structural bases for a complete myotoxic mechanism: crystal structures of two non-catalytic phospholipases A2-like from *Bothrops brazili* venom. *Biochimica et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics*, v. 1834, p. 2772 - 2781, 2013.
- 16 CÁRDENAS, R. N.; STABELI, R. G.; FREIRE, I. A.; SILVA, G. M. Desempenho físico de atletas femininas de basquetebol com historia de anemia e malária e atletas sadias. *Lecturas Educación Física y Deportes (Buenos Aires)*, v. 176, p. 1 - 8, 2013.
- 17 TRINDADE, F. T. T.; STABELI, R. G.; PEREIRA, A. A.; FACUNDO, V. A.; SILVA, A. A.. *Copaifera multijuga* ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Farmacognosia (Impresso)*, v. 23, p. 464 - 467, 2013.
- 18 GOMIDE, A. B.; THOMÉ, C. H.; DOS SANTOS, G. A.; FERREIRA, G. A.; FAÇA, V. M.; REGO, E. M.; GREENE, L. J.; STABELI, R. G.; CIANCAGLINI, P.; ITRI, R. Disrupting membrane raft domains by alkylphospholipids. *Biochimica et Biophysica Acta. Biomembranes*, v. 1828, p. 1384 - 1389, 2013.
- 19 BARROS, N. B.; MIGLIACCIO, V.; FACUNDO, V. A.; CIANCAGLINI, P.; STÁBELI, R. G.; NICOLETE, R.; SILVA-JARDIM, I. Liposomal-lupane system as alternative chemotherapy against cutaneous leishmaniasis: Macrophage as target cell. *Experimental Parasitology*, v. 135, p. 337 - 343, 2013.
- 20 PEREIRA, A. A. I.; FREIRE, I. A.; CÁRDENAS, R. N.; STABELI, R. G. Prevalência de atletas com histórico de malária. *Revista Digital de Deportes*, v. 18, p. 1 - 1, 2013.
- 21 GOMES, P. C.; DE SOUZA, B. M.; DIAS, N. B.; BRIGATTE, P.; MOURELLE, D.; ARCURI, H. A.; DOS SANTOS CABRERA, M. P. STABELI, R. G.; NETO, J. R.; PALMA, M. S. Structure-function relationships of the peptide Paulistine: A novel toxin from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. *Biochimica et Biophysica Acta. G, General Subjects (Print)*, v. 1840, p. 170 - 183, 2014.
- 22 CARVALHO, B. M. A.; CARVALHO, L.; SILVA JR, W. F.; MINIM, L.; SOARES, A. M.; CARVALHO, G. G. P.; DA SILVA, S. L. Direct capture of lactoferrin from cheese whey on supermacroporous column of polyacrylamide cryogel with copper ions. *Food Chemistry*, v. 154, p. 308 - 314, 2014.
- 23 IZIDORO, L. F.; MENDES, M. M.; RODRIGUES, V. M.; SOBRINHO, J. C.; da SILVA, S. L.; ZANCHI, F. B.; ZULIANI, J. P.; FERNANDES, C. F. C.; CALDERON, L. A.; STÁBELI, R. G.; SOARES, A. M. Snake venom L-amino acid oxidases: Trends in Pharmacology and Biochemistry. *Journal of Biomedicine and Biotechnology (Print)*, v. 2014, p. 1 - 19, 2014.
- 24 FURTADO, J. L.; OLIVEIRA, G. A.; SETUBAL, S. S.; PONTES, A. S.; XAVIER, C. V.; SILVA, F. L.; LIMA, B. F.; ZAQUEO, K. D.; KAYANO, A. M.; CALDERON, L. A.; STÁBELI, R. G.; SOARES, A. M.; ZULIANI, J. P. Activation of J77A.1 macrophages by three phospholipases A2 Isolated from *Bothrops atrox* snake venom. *Journal of Biomedicine and Biotechnology (Print)*, v. 2014, p. 1 - 13, 2014.

- 25 PONTES, A. S.; SETUBAL, S. S.; XAVIER, C. V.; SILVA, F. L.; KAYANO, A. M.; PIRES, W. L.; NERY, N. M.; CASTRO, O. B.; SILVA, S. D.; CALDERON, L. A.; STÁBELI, R. G.; SOARES, A. M.; ZULIANI, J. P. Effect of L-amino acid oxidase from *Calloselasma rhodostoma* snake venom on human neutrophils. *Toxicon* (Oxford), v. 80, p. 27 - 37, 2014.
- 26 CALDERON, L. A.; SOBRINHO, J. C.; ZAQUEO, K. D.; MOURA, A. A.; MAZZI, M. V.; MARCUSSI, S.; NOMIZO, A.; FERNANDES, C. F. C.; ZULIANI, J. P.; CARVALHO, B. M. A.; DA SILVA, S. L.; STÁBELI, R. G.; SOARES, A. M. Antitumoral Activity of Snake Venom Proteins: New Trends in Cancer Therapy. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Print), v. 2014, p. 1 - 19, 2014.
- 27 ZAQUEO, K. D.; KAYANO, A. M.; SIMÕES-SILVA, R.; MOREIRA-DILL, L. S.; FERNANDES, C. F. C.; MALTAROLO, G. V.; HONORIO, K.; da SILVA, S. L.; OLIVEIRA, E.; ACOSTA, G.; CABALLOL, M. A.; ALBERÍCIO, F.; CALDERON, L. A.; SOARES, A. M.; STÁBELI, R. G. Isolation and biochemical characterization of a new thrombin-like serine protease of *Bothrops pirajai* snake venom. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Print), v. 2014, p. 1 - 13, 2014.
- 28 GUIMARAES, C. L. S.; MOREIRA-DILL, L. S.; FERNANDES, R. S.; COSTA, T. R.; HAMELIN, L. I. S.; MARCUSSI, S.; DA SILVA, S. L.; ZULIANI, J. P.; FERNANDES, C. F. C.; CALDERON, L. A.; SOARES, A. M.; STABELI, R. G. Biodiversity as a source of bioactive compounds against snakebites. *Current Medicinal Chemistry*, v. 21, p. 2952 - 2979, 2014.
- 29 MARTINS, W.; BALDASSO, P. A.; HONORIO, K.; MALTAROLLO, V. G.; RIBEIRO, R.; CARVALHO, B. M. A.; CALDERON, L. A.; STABELI, R. G.; CABALLOL, M. A. O.; ACOSTA, G.; OLIVEIRA, E.; SOARES, A. M.; MARANGONI, S. A novel phospholipase A2 (D49) from the venom of the *Crotalus oreganus abyssus* (North American Grand Canyon Rattlesnake). *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Print), v. 2014, p. 1 - 11, 2014.
- 30 GUIMARAES, C. L. S.; ANDRIÃO-ESCARSO, S. H.; MOREIRA-DILL, L. S.; CARVALHO, B. M. A.; MARCHI-SALVADOR, D. P.; SANTOS-FILHO, N. A.; FERNANDES, C. A.; FONTES, M. R. M.; GIGLIO, J. R.; BARRAVIERA, B.; ZULIANI, J. P.; FERNANDES, C. F. C.; CALDERON, L. A.; STABELI, R. G.; SOARES, A. M. Alkylation of histidine residues of *Bothrops jararacussu* venom proteins and isolated phospholipases A2: A biotechnological tool to improve the production of antibodies. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Online), v. 2014, p. 1 - 15, 2014.
- 31 MOURA, A. A.; KAYANO, A. M.; OLIVEIRA, G. A.; SETÚBAL, S. S.; RIBEIRO, J. G.; BARROS, N. B.; NICOLETE, R.; MOURA, L.; FULY, A. L.; NOMIZO, A.; ZULIANI, J. P.; STABELI, R. G.; SOARES, A. M.; CALDERON, L. A. Purification and biochemical characterization of three myotoxins from *Bothrops matogrossensis* snake venom with toxicity against *Leishmania* and tumor cells. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Print), v. 2014, p. 1 - 13, 2014.
- 32 GIMENEZ, G. S.; COUTINHO-NETO, A.; KAYANO, A. M.; SIMÕES-SILVA, R.; TRINDADE, F. T.; MARCUSSI, S.; SILVA, A. A.; DA SILVA, S. L.; FERNANDES, C. F. C.; ZULIANI, J. P.; CALDERON, L. A.; SOARES, A. M.; STÁBELI, R. G. Biochemical and functional characterization of *Parawixia bistriata* spider venom with potential proteolytic and larvicidal activities. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Print), v. in, p. press, 2014.
- 33 TRINDADE, F.; SOARES, A. A.; MOURA, A. A.; REGO, T. B.; SOARES, A. M.; STÁBELI, R. G.; SILVA, A. A. E.. Insecticidal activity of *Leptodactylus knudseni* and *Phyllomedusa vaillantii* crude skin secretions against the mosquitoes *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti*. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* (Online), v. 20, p. 28, 2014.
- 34 SOARES, A. M. In Memoriam: Prof. Dr. José Roberto Giglio and his contributions to Toxinology. *Toxicon* (Oxford), v. 89, p. 91 - 93, 2014.
- 35 PEREIRA, S. S.; MOREIRA-DILL, L. S.; MORAIS, M. S. S.; PRADO, N. D. R.; BARROSO, M. L.; GONÇALVES, G. M.; ZULIANI, J. P.; CALDERON, L. A.; SOARES, A. M.; SILVA, L. H. P.; SANTOS, C. N. D.; FERNANDES, C. F. C.; STÁBELI, R. G. Novel Camelid Antibody Fragments Targeting Recombinant Nucleoprotein of *Araucaria hantavirus*: a prototype for an Early Diagnosis of Hantavirus Pulmonary Syndrome. *Plos One*, v. 9, p. e108067, 2014.
- 36 NADUR-ANDRADE, N.; DALE, C. S.; SOARES, A. M.; LIMA, C. J.; ZAMUNER, S. R. Photobiostimulation reduces edema formation induced in mice by Lys-49 phospholipases A2 isolated from *Bothrops moojeni* venom. *Photochemical & Photobiological Sciences* (Print), v. 13, p. 1561 - 1567, 2014.
- 37 COLHONE, M. C.; SILVA-JARDIM, I.; STABELI, R. G.; CIANCAGLINI, P. Nanobiotechnologic approach to a promising vaccine prototype for immunisation against leishmaniasis: a fast and effective method to incorporate GPI-anchored proteins of *Leishmania amazonensis* into liposomes. *Journal of Microencapsulation*, v. 18, p. 1 - 8, 2014.
- 38 DA SILVA, A. V. R.; DE SOUZA, B. M.; DOS SANTOS CABRERA, M. P.; DIAS, N. B.; GOMES, P. C.; NETO, J. R.; STABELI, R. G.; PALMA, M. The effects of the C-terminal amidation of mastoparans on their biological actions and interactions with membrane-mimetic systems. *Biochimica et Biophysica Acta. Biomembranes*, v. 1838, p. 2357 - 2368, 2014.
- 39 QUEIROZ, M. R. Q.; MAMEDE, C. C. N.; MORAIS, N. C. G.; FONSECA, K. C.; DE SOUSA, B. B.; MIGLIORINI, T. M.; PEREIRA, D. F. C.; STANZIOLA, L.; CALDERON, L. A.; SIMÕES-SILVA, R.; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, F. Purification and characterization of BmooAi: a new toxin from *Bothrops moojeni* snake venom that inhibits platelet aggregation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Print), v. 2014, p. 1 - 7, 2014.

- 40 MACEDO, S.R.A.; DE BARROS, N.B.; FERREIRA, A.S.; MOREIRA-DILL, L.S.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; NICOLETE, R. Biodegradable Microparticles Containing Crotonamine Isolated from *Crotalus durissus terrificus* Display Antileishmanial Activity in vitro. *Pharmacology (Online)*, v. 95, p. 78 - 86, 2015.

#### 4.2. Artigos Submetidos e/ou Aceitos

- 01 KAYANO, A.M.; SIMÕES-SILVA, R.; DA SILVA, S.L.; MALTAROLLO, G.V.G.; HONORIO, K.M.; ACOSTA, G.; CABALLOL, M.A.O.; OLIVEIRA, E.; ALBERICIO, F.; MEDEIROS, P.S.M.; AGUIAR, A.C.C.; ZULIANI, J.P.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. BbMP-1, a new metalloproteinase isolated from *Bothrops brazili* snake venom with antimalarial properties. *Toxicon*, submitted, 2015.
- 02 ZAQUEO, K.D.; KAYANO, A.M.; DOMINGOS, T.F.S.; MOURA, L.A.; FULY, A.L.; DA SILVA, S.L.; ACOSTA, G.; OLIVEIRA, E.; ALBERICIO, F.; ZANCHI, F.B.; ZULIANI, J.P.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. BrzSP-32 thrombolytic enzyme, the first serine protease isolated from *Bothrops brazili* venom: Purification and characterization. *Toxicon*, submitted, 2015.
- 03 SOBRINHO, J.C.; SIMÕES-SILVA, R.; MOREIRA-DIL, L.S.; HOLANDA, R.J.; FERNANDES, C.F.C.; ZANCHI, F.B.; ZULIANI, J.P.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. Antitumoral Potential of Snake Venom Phospholipases A2 and Synthetic Peptides. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, submitted, 2015.
- 04 PRIMON-BARROS, M.; KAYANO, A.M.; DINIZ-SOUSA, R.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; MACEDO, A.J. Inhibition of biofilm formation of pathogenic bacteria by snake crude venoms. *Toxicon*, submitted, 2015.
- 05 GOMIDE, A.B.; SOARES, A.A.; REGO, T.B.; PONTES, A.S.; SOARES, A.M.; ZULIANI, J.P.; CIANCAGLINI, P.; STABELI, R.G.; MATOS, N.B.; CALDERON, L.A.; ITRI, R. Antibacterial effect and pore-forming action of Ocellatin-K1 (OK1) peptide derived from the Amazonian frog *Leptodactylus knudseni*. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, submitted, 2015.
- 06 CURY, T.A.; YONEDA, J.S.; ZULIANI, J.P.; SOARES, A.M.; STABELI, R.G.; CALDERON, L.A.; CIANCAGLINI, P. Cinnamic acid derived compounds loaded into liposomes: antileishmanial activity, production standardization and characterization. *Journal of Microencapsulation*, submitted, 2015.

#### 4.3. Artigos em Preparação

- 01 CHEVREUIL, L. R.; GONÇALVES, J. F. C.; CALDERON, L. A.; SOUZA, L. A. G.; PANDO, S. C.; BORGES, E. E. L. Partial purification of trypsin inhibitors from *Parkia* seeds (Fabaceae). *Hoehnea* (São Paulo), 2015.
- 02 ALMEIDA, J. R.; RESENDE, L. M.; BALDASSO, P. A.; MALTAROLLO, V. G.; HONÓRIO, K. M.; RIBEIRO, R. I. M. A.; STÁBELI, R. G.; CALDERON, L. A.; SOARES, A. M.; CABALLOL, M. A. O.; ACOSTA, G.; OLIVEIRA, E.; ALBERICIO, F.; MARANGONI, S.; DA SILVA, S. L. Biochemical and functional studies of ColTx-I, a new myotoxic phospholipase A2 isolated from *Crotalus oreganus lutosus* snake venom. *Biochimie*, 2015.
- 03 GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, I. I.; QUINTERO, A.; SILVA, C. H. T. P.; DA SILVA, S. L.; PEREIRA, P. S.; TAKEDA, A. A. S.; FONTES, M. R. M.; ZULIANI, J. P.; CALDERON, L. A.; STÁBELI, R. G.; SOARES, A. M. Isolation and structural characterization of bioactive compound from *Aristolochia sprucei* aqueous extract with anti-myotoxic activity. *Phytomedicine*, 2015.
- 04 VIEIRA, L. F.; MOREIRA-DILL, L. S.; BUTZKE, D. S.; OLIVEIRA, E. B.; NOMIZO, A.; FERREIRA, S. H.; CALDERON, L. A.; STÁBELI, R. G.; GIGLIO, J. R.; SOARES, A. M. Molecular interaction and pharmacological properties of Intercro, a new isoform phospholipase A2 from *Crotalus durissus terrificus* snake venom. *Toxicon*, 2015.
- 05 MENDES, N. A. D.; CALDEIRA, C. A. S.; MOURA, A. A.; ROMERO, D. L.; MARCUSSI, S.; MOURA, L. A.; FULY, A. L.; DE CARVALHO, C.; CAVALCANTE, W. L. G.; GALLACCI, M.; NOMIZO, A.; STÁBELI, R. G.; CALDERON, L. A.; SOARES, A. M. Biochemical and pharmacological characterization of extracts from Caribbean sea anemones (Cnidaria): Evaluation of anti-snake venom and antitumor properties. *Toxicon*, 2015.
- 06 COSTA, T. R.; GUIMARÃES, C. L. S.; MOREIRA-DILL, L. S.; MARCUSSI, S.; PEREIRA, P. S.; DA SILVA, S. L.; MATIOLI, F. F.; FERNANDES, C. A. H.; TAKEDA, A. A. S.; FONTES, M. R. M.; FERNANDES, C. F. C.; CALDERON, L. A.; STÁBELI, R. G.; SOARES, A. M. Gallic Acid, a new snake venom myotoxin inhibitor, isolated from *Anacardium humile*. *Phytochemistry*, 2015.
- 07 HOLANDA, R.J.; DEVES, C.; MOREIRA-DILL, L.S.; MARTTINELLI, L.K.B.; CALDERON, L.A.; FERNANDES, C.F.C.; MEDEIROS, P.S.M.; HONDA, E.R.; STÁBELI, R.G.; SANTOS, D.S.; PEREIRA DA SILVA, L.H. Plasmodium falciparum Purine Nucleoside Phosphorylase (PNP, EC 2.1.2.4) as Model to Search for New Inhibitors by High Throughput Screening. *Biochimica Biophysica Acta, General Subjects*, submitted, 2015.

#### 4.5. Resumos

- 01 OLIVEIRA, G.A.; KAYANO, A. M.; ZAQUEO, K.D.; SETÚBAL, S.S.; SOBRINHO, J.C.; SIMÕES-SILVA, R.; MOREIRA-DILL, L. S.; COUTINHO-NETO, A.; CALDEIRA, C. A. S.; ZULIANI, J. P.; CALDERON, L. A.; SOARES, A.M.; STÁBELI, R. G. Isolation and biochemical characterization of myotoxic Phospholipase A2-like from *Bothrops atrox* snake venom. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Livro de Resumos, 2013. p. P.ST29.
- 02 COUTINHO-NETO, A.; ZAQUEO, K. D.; CALDEIRA, C. A. S.; SIMÕES-SILVA, R.; DINIZ-SOUSA, R.; DOMINGOS, T.F.S.; MOURA, L.A.; FULY, A.L.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; STÁBELI, R.G. Study of ontogenetic variation of *Bothrops atrox* by proteomic analysis, the region of Porto Velho - RO, belonging to the Brazilian Amazon. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.ST30.
- 03 ZAQUEO, K.D.; KAYANO, A. M.; OLIVEIRA, G.A.; SIMÕES-SILVA, R.; SOBRINHO, J.C.; MOREIRA-DILL, L. S.; DOMINGOS, T.F.S.; FULY, A.L.; SILVA, S.L.; ZULIANI, J.P.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; STÁBELI, R.G. Isolation and partial characterization of a new serineprotease from *Bothrops brazili* snake venom. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.ST31.
- 04 TERRA, A.L.C.; ZAQUEO, K.D.; SIMÕES-SILVA, R.; KAYANO, A. M.; GIMENEZ, G. S.; MONTEIRO, J.R.N.; CALDEIRA, C. A. S.; NASCIMENTO, M.J.M.; SILVA, S.D.; BUTZKE, D.S.; MEDEIROS, P.S.M.; MOREIRA-DILL, L. S.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; STÁBELI, R. G. Biochemical and functional characterization of the amazon coral snake venom (*Micrurus spixii*): isolation of a new neurotoxic phospholipase A2. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.ST40.
- 05 SIMÕES-SILVA, R.; MOREIRA-DILL, L. S.; GUIMARAES, C. L. S.; OLIVEIRA, G.A.; ZAQUEO, K. D.; KAYANO, A.M.; SOBRINHO, J.C.; CALDEIRA, C. A. S.; CALDERON, L.A.; GIGLIO, J.R.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. Chemical modifications of Bothropstoxins from *Bothrops jararacussu*: evaluation of neutralizing ability of antibody produced against BPB-modified toxins. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.AV24.
- 06 MOREIRA-DILL, L. S.; GUIMARAES, C. L. S.; KAYANO, A. M.; SIMÕES-SILVA, R.; ZAQUEO, K. D.; OLIVEIRA, G.A.; SOBRINHO, J.C.; CALDERON, L.A.; CALDEIRA, C. A. S.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. Screening a potential myotoxin inhibitor from *Humiranthera ampla* using surface plasmon resonance (spr). In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.DD7.
- 07 SOBRINHO, J.C.; KAYANO, A. M.; SIMÕES-SILVA, R.; OLIVEIRA, G.A.; MOREIRA-DILL, L. S.; ZAQUEO, K. D.; CALDEIRA, C. A. S.; SILVA, S.L.; ZULIANI, J.P.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. Isolation and biochemical characterization of two acidic Phospholipases A2 from *Bothrops brazili* snake venom. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.ST48.
- 08 NASCIMENTO, M.J.M.; MOREIRA-DILL, L. S.; GUIMARAES, C. L. S.; PALOSCHI, M.V.; RODRIGUES, R.F.; SIMÕES-SILVA, R.; ZAQUEO, K. D.; COSTA, T.R.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. Study of molecular interaction of natural inhibitors of Bothropstoxin I and II by surface plasmon resonance. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.PR7.
- 09 MOURA, A. A.; KAYANO, A. M.; SETÚBAL, S.S.; OLIVEIRA, G.A.; RIBEIRO, J.G.; BARROS, N.; MOURA, L.A.; FULY, A.L.; NICOLETE, R.; NOMIZO, A.; ZULIANI, J. P.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M.; CALDERON, L.A. Purification and biochemical characterization of the Phospholipases A2 from *Bothrops matogrossensis* snake venom with cytotoxicity on tumor cells lines and promastigotes forms of *Leishmania*. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.PR8.
- 10 DINIZ-SOUSA, R.; KAYANO, A. M.; COUTINHO-NETO, A.; MOURA, A. A.; MONTEIRO, M.C.; FULY, A.L.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; STÁBELI, R. G. Partial biochemical and enzymatic characterization of the crude venom from the social wasp *Polybia occidentalis* (Vespidae): isolation of a phospholipase. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.PR10.
- 11 CALDEIRA, C. A. S.; MOREIRA-DILL, L. S.; COUTINHO-NETO, A.; GUIMARAES, C.L.; REGO, T.B.; OLIVEIRA, G.A.; SIMÕES-SILVA, R.; SOBRINHO, J.C.; SERBINO, N.M.B.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. Purification and partial characterization of a protein from amazon *Bothrops atrox* snake venom with affinity to chymotrypsin. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.PR15.
- 12 DINIZ-SOUSA, R.; KAYANO, A. M.; MONTEIRO, M.C.; FULY, A.L.; MARCUSSI, S.; ZULIANI, J.P.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; STÁBELI, R.G. Toxicological characterization of social wasp *Polybia occidentalis* (vespidae) venom. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.TH9.
- 13 MOREIRA-DILL, L. S.; BUTZKE, D.S.; OLIVEIRA, G.A.; SILVA, S.D.; SIMOES-SILVA, RODRIGO ; ZAQUEO, K. D. ; CALDEIRA, C. A. S. ; KAYANO, A. M. ; VIEIRA, L.F. ; GIGLIO, J.R. ; CALDERON, LEONARDO A. ; STÁBELI, RODRIGO G. ; SOARES, A.M. . Novel approaches in molecular interaction

- between intercro and crotapotin by surface plasmon resonance SPR. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.ST64.
- 14 SILVA, S.D.; KAYANO, A. M.; BUTZKE, D.S.; NASCIMENTO, M.J.M.; RODRIGUES, R.F.; PALOSCHI, M.V.; TELES, C.B.G.; BARROS, N.B.; NICOLETE, R.; AGUIAR, A.C.C.; MEDEIROS, P.S.M.; NOMIZO, A.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. Isolation and biochemical characterization of L-amino acid oxidase from *Calloselasma rhodostoma* snake venom with bactericidal, anti-parasitic and antitumour activities. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.ST65.
- 15 GIMENEZ, G. S.; COUTINHO-NETO, A.; KAYANO, A. M.; CALDEIRA, C. A. S.; MOURA, A. A.; DINIZ-SOUSA, R.; OLIVEIRA, G.A.; SIMÕES-SILVA, R.; TRINDADE, F.; SILVA, A. A.; MARCUSSI, S.; SALTORATTO, A.L.F.; BELEBONI, R.O.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; STÁBELI, R.G. Biochemical and toxicological characterization of *Parawixia bistriata* spider venom. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013. p. P.SP15.
- 16 PONTES, A.S.; SETÚBAL, S.S.; XAVIER, C. V.; LACOUTH-SILVA, F.; KAYANO, A. M.; PIRES, W.L.; NÉRY, N.M.; CASTRO, B.C.; SILVA, S.D.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M.; ZULIANI, J. P. Effect of L-amino acid oxidase from *Calloselasma rhodostoma* snake venom on human neutrophils. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.TI4.
- 17 SETÚBAL, S.S.; PONTES, A.S.; NÉRY, N.M.; BASTOS, J.F.; CASTRO, B.C.; PIRES, W.L.; ZAQUEO, K.D.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M.; ZULIANI, J.P. Effect of *Bothrops bilineata* snake venom on neutrophils function. In: XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Resumos, 2013. p. P.TI5.
- 18 CASTRO, O. B.; KAYANO, A.M.; XAVIER, C. V.; SETUBAL, S. S.; PONTES, A. S.; NÉRY, N.M.; PIRES, W. L.; CALDERON, L.A.; SOARES, A. M.; FERNANDES, C. C.; STABELI, R. G.; ZULIANI, J. P. Molecular Mechanisms Involved in the Activation of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells Induced by BjcUL a lectin Isolated From *Bothrops jararacussu* venom.. In: 11th World Congress on Inflammation, 2013, Natal. Livro de Resumos do 11th World Congress on Inflammation, 2013.
- 19 REGO, T.B.; DIAZ, J.J.A.R.; CALDEIRA, C.A.S.; GRABNER, A.; STABELI, R.G.; SOARES, A. M.; GOMEZ, M. C. V.; CALDERON, L.A. . Evaluation of trypanocidal activity from the venom of parotoid macroglands of *Rhinella schneideri* (Anura: Bufonidae). In: XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014, Foz do Iguaçu. Anais do XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014.
- 20 CALDEIRA, C.A.S.; DIAZ, J.J.A.R.; REGO, T.B.; COUTINHO-NETO, A.; AMARAL, J.L.; SOUZA, R.D.; GOMEZ, M.C.V.; STABELI, R.G.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M. Evaluation of Trypanocidal Activity of Thermally Treated *Bothrops atrox* Snake Venom. In: XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014, Foz do Iguaçu. Anais do XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014.
- 21 DIAZ, J. J. A. R.; KAYANO, A.M.; SOBRINHO, J.C.; STÁBELI, R.G.; GOMEZ, M. C. V.; VOURLIOTIS, S.; GRABNER, A.; SOARES, A.M.; CALDERON, L.A. In Vitro Trypanocidal Activity of Phospholipase A2 Isolated From *Bothrops mattogrossensis* Snake Venom. In: XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014, Foz do Iguaçu. Anais do XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014.
- 22 CORRÊA, E.A.; LOPES, J. A.; BUTZKE, D.S.; DIAZ, J.J.A.R.; MELO, W.H.R.; DINIZ-SOUSA, R.; KAYANO, A.M.; GRABNER, A.; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M.; CALDERON, L.A. Purification of Basic Phospholipases and the Microbicidal Effect of *Bothrops neuwiedi urutu* Crude Venom on Strains of *E. coli*. In: XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014, Foz do Iguaçu. Anais do XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014.
- 23 SOBRINHO, J.C.; KAYANO, A.M.; SIMOES-SILVA, R.; DA SILVA, S.; MALTAROLLO, V.G.; HONORIO, K.; ALBERICIO, F.; CALDERON, L.A. ; STÁBELI, R.G.; SOARES, A.M. Isolation and biochemical characterization of acidic phospholipases A2 from *Bothrops brazili* snake venom. In: XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014, Foz do Iguaçu. Anais do XLIII Annual Meeting of SBBq, 2014.
- 24 DIAZ, J.J.A.R.; GOMEZ, M.C.V.; SANTIAGO, V.; KAYANO, A.M.; SIMOES-SILVA, R.; SOARES, A.M.; CALDERON, L.A. In Vitro trypanocidal activity of a Lectin isolated from *Bothrops diporus* snake venom. In: 13th INTERNATIONAL CONGRESS OF PARASITOLOGY, 2014, Mexico City. In Vitro trypanocidal activity of a Lectin isolated from *Bothrops diporus* snake venom, 2014.
- 25 CURY, T.A.C.; YONEDA, J.S.; CALDERON, L.A.; STÁBELI, R.G.; CIANCAGLINI, P. Analogue to 3,4,5-trimethoxy-dihydrocinamic vehicled in different liposomes system: production, biophysical characterization and its application like a leishmanicide. In: XXIX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, 2014, Caxambu. Anais, 2014.

## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientações Concluídas

- 01 ANDERSON MAKOTO KAYANO. Doutorado. Caracterização bioquímica de metaloprotease do veneno de *Bothrops brazili* da região amazônica. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2013. Orientador: Rodrigo Guerino Stábili.
- 02 ANTÔNIO COUTINHO NETO. Doutorado. Variação ontogenética do veneno de *Bothrops atrox* pela análise proteômica e peptidômica: Identificação de peptídeos potencializadores de bradicinina. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2013. Orientador: Rodrigo Guerino Stábili.
- 03 CÉSAR LUIZ SILVA GUIMARÃES. Doutorado. Inibidores naturais de venenos de serpentes brasileiros: Busca de terapias alternativas ao envenenamento ofídico. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2013. Orientador: Rodrigo Guerino Stábili.
- 04 ANDREA AUGSBURGER DE MOURA. Mestrado. Isolamento e caracterização bioquímica de fosfolipases A2 miotóxicas do veneno de *Bothrops mattogrossensis* com atividade antileishmania e antitumoral. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2013. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 05 CARINA GODOY PICELLI. Mestrado. Análise do potencial biotecnológico de serpentes da Amazônia: caracterização do veneno de *Bothrops bilineata* e identificação do gene de inibidores de fosfolipases A2 de *Bothrops atrox* e *Micrurus lemniscatus*. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2013. Orientador: Rodrigo Guerino Stábili.
- 06 GIZELI SILVA GIMENEZ. Mestrado. Caracterização bioquímica e toxicológica do veneno da aranha *Parawixia bistriata*: isolamento de uma enzima proteolítica. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2013. Orientador: Rodrigo Guerino Stábili.
- 07 RAFAELA DINIZ SOUSA. Mestrado. Caracterização bioquímica e funcional dos componentes do veneno da vespa social *Polybia occidentalis*: Identificação de fosfolipases enzimaticamente ativas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2013. Orientador: Rodrigo Guerino Stábili.
- 08 JOSÉ RONIELE DO NASCIMENTO MONTEIRO. Mestrado. Caracterização das Ingazinas: Uma nova classe de inibidores de proteases. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2013. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 09 GEORGE AZEVEDO DE OLIVEIRA. Iniciação Científica. Caracterização bioquímica e funcional de fosfolipases A2 isoladas do veneno da serpente *Bothrops atrox*. Graduando em Química, UNIR, PIBIC-UNIR. 2013. Orientador: Rodrigo Guerino Stábili.
- 10 SILVANA DANTAS DA SILVA. Iniciação Científica. Avaliação microbicida de L-aminoácido oxidase isolada do veneno de *Calloselasma rhodostoma*. Graduanda em Biomedicina, Faculdade São Lucas, PIBIC-Fiocruz. 2013. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 11 RAÍRES FERREIRA RODRIGUES. Iniciação Científica. Efeito microbicida do veneno de *Crotalus durissus cascavella*. Graduanda em Biologia, Faculdade São Lucas, PIBIC-FSL. 2013. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 12 ÂNGELA ARAÚJO SOARES. Avaliação Da Atividade Antimicrobiana Do Peptídeo Ocellatin-K1 De *Leptodactylus knudseni* (Anura: Leptodactylidae). 2013. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Rondônia, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 13 TIAGO BISPO REGO. Purificação e Caracterização de Inibidores de Serinoproteases de Venenos de Anuros Bufonídeos. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 14 JULIANA CONCEIÇÃO SOBRINHO. Isolamento e Caracterização funcional e estrutural de Fosfolipases A2 ácidas do veneno de *Bothrops brazili*. 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 15 MÁRJORE JÉSSICA MELO NASCIMENTO. Avaliação do efeito Antimicrobiano, Candidacida, Leishmanicida e Antimalárico de toxinas isoladas do veneno serpentes *Bothrops jararacussu*. 2014. Iniciação Científica. (Graduando em Ciências Biológicas) - Faculdade São Lucas, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 16 CHARLES NUNES BOENO. Padronização de métodos para a identificação de proteínas de membrana de Eritrócitos infectados por *Plasmodium falciparum* imunorreativas ao soro de pacientes assintomáticos para malária. 2014. Iniciação Científica. (Graduando em Biomedicina) - Faculdade São Lucas, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 17 DIANA DA SILVA BUTZKE. Avaliação Microbicida de Toxinas Isoladas do Veneno de *Crotalus d. terrificus*. 2014. Iniciação Científica - Fundação Oswaldo Cruz - Unidade de Rondônia, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 18 LEANDRO SOARES MOREIRA DILL. Estudo da inibição da integração molecular entre enolase de *P. falciparum* e a proteína ligante a enolase (EBP) do vetor *Anopheles darlingi*. 2014. Tese (Doutorado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia, Conselho Nacional de Desenvolvimento

- Científico e Tecnológico. Orientador: Rodrigo Guerino Stabeli.
- 19 19 SORAYA DOS SANTOS PEREIRA. Seleção e Caracterização de Nanocorpos de Camelídeos Contra o Antígeno Recombinante do Segmento-S de Hantavírus, Cepa Araucária: Um Protótipo para Diagnóstico Alternativo de Infecções por Hantavírus.. 2014. Tese (Doutorado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia, . Orientador: Rodrigo Guerino Stabeli.

## 5.2. Orientações em Andamento

- 01 ANGELO LAURENCE COVATTI TERRA. Doutorando. Isolamento e caracterização estrutural e funcional de uma fosfolipase A2 da peçonha da coral amazônica *Micrurus spixii*. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 02 ANDRELISSE ARRUDA. Doutoranda. Desenvolvimento de phage display em fagos de bactérias encontradas em mosquitos como ferramenta nanotecnológica para o bloqueio de transmissão de malária. Tese (Doutorado em BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA - REDE BIONORTE) - Universidade Federal do Amazonas. Orientador: Rodrigo Guerino Stabeli.
- 03 AMY NICOLE GRABNER. Desenvolvimento Tecnológico. DTI. Isolamento e caracterização de desintegrinas do veneno de *Bothrops jararacussu*. Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 04 CLAUDIA SIQUEIRA DE OLIVEIRA. Mestranda. Isolamento e Caracterização bioquímica de um inibidor plasmático do gambá *Didelphis albiventris*. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 05 CLEÓPATRA ALVES DA SILVA CALDEIRA. Mestranda/Doutoranda. Purificação e caracterização de inibidores de protease do veneno de *Bothrops atrox* da Amazônia. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Andreimar Martins Soares. Doutoranda Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte – Universidade Federal do Amazonas. Orientador: Rodrigo Guerino Stabeli.
- 06 DIEGO MENEGHELLI. Doutorando. Levantamento da Herpetofauna da Estação Ecológica do Cuniã, Porto Velho, Rondônia. Início: 2013. Tese (Doutorado em BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA - REDE BIONORTE) - Universidade Federal do Amazonas. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 07 EDAILSON DE ALCÂNTARA CORRÊA. Doutorando. Caracterização bioquímica e enzimática de Fosfolipases A2 do veneno de *Bothrops urutu*. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte – Universidade Federal do Amazonas. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 08 FLÁVIA CRISTINA AMARO GUERRERO. Iniciação Científica. Efeito microbicida de L-aminoácido oxidase isolada do veneno de *Calloselasma rhodostoma*. Graduando em Farmácia, Faculdade FIMCA, PIBIC-FIOCRUZ. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 09 JÉSSICA AMARAL LOPES. Caracterização bioquímica de peptídeos biologicamente ativos do veneno de *Bothrops atrox*. Graduando em Biologia, UNIR, PIBIC-UNIR. Orientador: Antônio Coutinho Neto.
- 10 JORGE JAVIER ALFONSO RUIZ DÍAZ. Mestrando. Isolamento e caracterização bioquímica e funcional de fosfolipases A2 básicas do veneno de *Bothrops mattogrossensis* com potencial atividade antiparasitária. Início: 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 11 JOSÉ RONIELE DO NASCIMENTO MONTEIRO. Desenvolvimento Tecnológico. DTI. Caracterização Bioquímica e enzimática de hialuronidases de veneno de *Crotalus d. terrificus*. Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 12 JULIANA CONCEIÇÃO SOBRINHO. Doutoranda. Isolamento e Caracterização molecular de inibidores de fosfolipases A2 de serpentes. Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 13 KAYENA DELAIX ZAQUEO. Doutoranda. Caracterização bioquímica de serinoprotease do veneno de *Bothrops brazili* da região amazônica. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte – Universidade Federal do Amazonas. Orientador: Rodrigo Guerino Stabeli.
- 14 KAYNARA DELAIX ZAQUEO. Doutoranda. Levantamento da Herpetofauna da região amazônica de Rondônia. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte – Universidade Federal do Amazonas. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.
- 15 MARCOS ANDRÉ NUNES. Estágio/Iniciação Científica. Serpentes: Manejo e extração de venenos animais. Graduando em Biologia-UNIRON. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 16 RAFAELA DINIZ SOUSA. Doutoranda. Caracterização bioquímica e funcional dos componentes do veneno de *Lachesis muta* da região Amazônica. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Andreimar Martins Soares.
- 17 RODRIGO SIMÕES SILVA. Doutorando. Implantação de métodos para detecção de proteínas de membrana de eritrócitos infectados por *Plasmodium falciparum* como possíveis alvos da resposta imunológica distinta em pacientes assintomáticos para malária. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte – Universidade Federal do Amazonas. Orientador: Rodrigo Guerino Stabeli.



- 18 WALACE HENRIQUE REIS MELO. Iniciação Científica. Efeito microbicida de L-aminoácido oxidase isolada do veneno de *Crotalus atrox*. Graduando em Farmácia, Faculdade FIMCA, PIBIC-FIOCRUZ. Orientador: Leonardo de Azevedo Calderon.

### **5.3. Organização de Eventos e Cursos**

**I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia e II Encontro de Pós-Graduação em Saúde de Rondônia.** Andreimar M. Soares, Carla Freire C. Fernandes, Alexandre A. Silva, Leonardo A. Calderon, Rodrigo G. Stábeli, 22 a 25 de outubro, 2013.

**I Minicurso de Cinética Enzimática.** Marcelo M. Santoro (UFMG), Leonardo A. Calderon, 20 horas, 2013.

**I Curso de Extensão em Biotecnologia e Bioquímica de Toxinas Animais de Rondônia.** Andreimar M. Soares, Leonardo A. Calderon, 24 a 28 de fevereiro, 40 horas, 2014.

### **6. LICENÇAS E AUTORIZAÇÕES OBTIDAS**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético: Autorização de acesso e de remessa de amostra de componente do patrimônio genético nº 010627/2011-1.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade: Autorização para atividades com finalidade científica nº 27131-2.

# PLATAFORMA DE BIOENSAIOS DE MALÁRIA E LEISHMANIOSE



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1. Pesquisador Principal

Dr<sup>a</sup>. Carolina Bioni Garcia Teles (Responsável pela Plataforma)  
<http://lattes.cnpq.br/8279471785523666>

### 1.2. Equipe

Patrícia Soares de Maria Medeiros, Doutora, Bióloga, Professora da UNIR  
Elci Marlei Freitag, Bióloga, Técnica, FIOCRUZ/RO  
Flávio Augusto de Souza Oliveira, Biomédico, Técnico, FIOCRUZ/RO.  
Carlos Alberto Costa dos Santos, Microscopista, FIOCRUZ/RO  
Ana Paula de Azevedo dos Santos, Bióloga, Bolsista DTI, FIOCRUZ/ RO  
Daniel Sol Sol, Biólogo, Mestrando, PGBioExp/ UNIR  
Guilherme Matos Passarini, Biólogo, Mestrando, PGBioExp/ UNIR  
Saara Neri Fialho, Estagiária de Iniciação Científica

### 1.3. Colaborações Nacionais

Rodrigo Guerino Stábeli, CEBio-UNIR, RO  
Mauro Shugiro Tada, CEPEN, RO  
Andreimar Martins Soares, Fiocruz RO  
Leonardo Calderon, Fiocruz RO  
Valdir Facundo, UNIR, Porto Velho, RO  
Ricardo Godoi Matos Ferreira, Fiocruz RO  
Roberto Nicolete, Fiocruz RO  
Luis Augusto Basso, UFRGS, Porto Alegre/RS  
Dígenes S. Santos, UCRGS, Porto Alegre RS  
Antoniana U. Krettli, UFMG, Belo Horizonte MG  
Spartaco Astolfi Filho UFAM, Manaus, AM  
Simone Cristina Baggio Gnoatto, UFRGS, Porto Alegre/ RS.  
Luís Gustavo Robello, São Paulo, Vita Nova.

### 1.4. Colaborações Internacionais

Artur Scherf, Institut Pasteur, Paris França  
Denise Mattei, Institut Pasteur, Paris França  
Douglas Golenbock, Massachusetts University, Boston, USA  
Luiz Shozo Ozaki, Virginia University, Richmond USA

## 2. INFRAESTRUTURA

A área do laboratório é localizada no prédio da Fiocruz Rondônia, essa unidade de pesquisa integra a Plataforma Técnica RPT11G-Bioensaios de Malária e Leishmaniose da FIOCRUZ/RO e ocupa uma área de aproximadamente 40 m<sup>2</sup>, divididos em três ambientes, contendo a sala de cultura que é ambiente isolado e exclusivo para o desenvolvimento e manutenção de culturas de células e *P. falciparum*. O Laboratório tem como principal objetivo investigar (*in vitro* e *in vivo*) a bioatividade de extratos vegetais ou substâncias sintéticas visando à descoberta de potenciais compostos com atividade antimalárica e leishmanicida. Os estudos *in vitro* são realizados através de ensaio imunoenzimático (anti-HRP II) para o *P. falciparum* e testes de citotoxicidade e leishmanicidas pelo Método de MTT. Atualmente, a equipe dispõe de acesso ao biotério da Fiocruz Rondônia que disponibiliza camundongos de linhagens Balb/C para utilização em experimentação. Os compostos potencialmente ativos são utilizados em experimentos de quimioterapia *in vivo* com as linhagens de *Plasmodium berghei* (marcadas por GFP) e *Leishmania amazonensis*,

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de Pesquisa

*Análise da bioatividade de extratos naturais e compostos biossintéticos contra Leishmania sp. in vitro e in vivo.* Linha mestra dos estudos realizados pelo Laboratório de Bioensaios de Malária e Leishmaniose, desenvolvida em parceria com colaboradores diversos, visando à pesquisa de novos quimioterápicos para o controle de doenças importantes como a Leishmaniose.

*Análise da bioatividade de produtos naturais ou sintéticos contra Plasmodium em sistemas in vitro e in vivo.* Linha mestra dos estudos realizados pelo Laboratório de Bioensaios de Malária e Leishmaniose, desenvolvida em parceria com colaboradores diversos, visando à pesquisa de novos fármacos contra a malária.

*Avaliação da capacidade de interação entre compostos purificados em potencial contra alvos moleculares dos parasitos de malária por ressonância plasmônica de superfície (SPR).* Em colaboração com Dr. Andreimar Martins Soares e Dr. Rudson de Jesus Holanda do Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde (CEBio).

### 3.2. Projetos

#### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

**Prospecção, caracterização e prototipagem de agentes de ação antimalárica e inseticida a partir da biodiversidade da Amazônia Legal.** CNPQ Proc. 404358/2012-8. Coordenação Dr. Rodrigo Guerino Stabeli. Descrição: Análise da atividade anti-parasitária e/ou anti-vetorial de extratos naturais oriundos em sua maioria da biodiversidade amazônica e compostos sintéticos obtidos por purificação clássica e/ou isolados por ressonância plasmônica de superfície (SPR). Os compostos são analisados *in vitro* utilizando-se modelos de culturas celulares, e em infecções experimentais *in vivo*, quando ativos contra *Plasmodium falciparum*. Período: 2013-atual.

**Métodos moleculares e clássicos aplicados à identificação e caracterização de novos compostos químicos ativos contra malária e leishmaniose à partir da biodiversidade.** CNPQ. Coordenação Dr. Leonardo de A. Calderon. Descrição: O projeto tem o objetivo de identificar, isolar e produzir, em nível experimental, protótipos de novas drogas derivadas de moléculas de origem vegetal, animal e microbiana oriundas da biodiversidade brasileira, ou especificamente sintetizadas, ativas contra alvos moleculares de vias metabólicas particulares de parasitas da malária e das leishmanioses humanas e de seus respectivos vetores insetos. Período: 2013-atual.

**Genômica e proteômica aplicadas à identificação de rotas metabólicas específicas de parasitas do gênero Plasmodium e Leishmania e de insetos vetores: isolamento e produção de novas drogas diretamente a partir da biodiversidade brasileira ou por modificação e/ou síntese química – Bionorte.** Coordenador da Rede. Prof. Luiz Hildebrando Pereira da Silva, MD. Instituição de Fomento: Número do Convênio CNPq: 550934/2010-3. Descrição: Análise da bioatividade de extratos naturais e compostos biossintéticos contra *Plasmodium* em sistemas *in vitro* e *in vivo*. Avaliação da atividade anti-*P. falciparum* (clone W2- cloroquina resistente e/ou cepa 3D7-cloroquina sensível), pelo método de ELISA (Anti-HRP II) de amostras enviadas por colaboradores, assim como avaliação do efeito citotóxico pelo método do MTT, em células de hepatoma humano. Período: 2009-2014.

**Bioprospecção da diversidade marinha como ferramenta para identificação e caracterização de biomoléculas com potencial atividade antimicrobiana, antiofídica e inseticida.** CNPQ nº 63/2013 MCTI/CNPQ/FNDCT. Coordenação Dr. Andreimar Martins Soares. Descrição: Projeto em colaboração com o Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas a Medicina (CEBio-Fiocruz), visa a estruturação de uma rede de pesquisa em Biotecnologia Marinha. Período: 2013-atual.

**Desenvolvimento de novas opções terapêuticas para malária busca racional de novos agentes antimaláricos na flora brasileira.** Coordenação Dr<sup>a</sup>. Ana Cláudia Fernandes Amaral, Laboratório de plantas medicinais, FIOCRUZ-RJ. Descrição: O projeto visa o isolamento de novos agentes antimaláricos e antileishmania a partir de extratos e frações de espécies vegetais brasileiras. Período: 2013 – atual.

**Estudo químico e atividade biológica da sobre casca de *Maytenus guyanensis*.** Coordenação Dr. Valdir Alves Facundo do Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais/ UNIR. Descrição: O objetivo do projeto é avaliar a ação anti-plasmódica e leishmanicida dos extratos e substâncias isoladas da referida planta. Período: 2013-atual.

**Semissíntese de triterpenos visando à atividade antimalárica.** Coordenação Dra. Simone Cristina Baggio Gnoatto, UFRGS, Porto Alegre/ RS. Descrição: O objetivo desse projeto é obter novos antimaláricos através da modificação estrutural (semissíntese) de compostos de origem natural como os triterpenos pentacíclicos ácido ursólico, ácido betulínico e betulina. Período: 2014-atual.

#### 4. PUBLICAÇÕES

##### 4.1. Artigos Aceitos para Publicação em Revistas Indexadas

- 01 COSTA, J.D.N.; ZANCHI, F.B.; RODRIGUES, F.L.S.; HONDA, E.R.; KATSURAGAWA, T.H.; PEREIRA, D.B.; TABORDA, R.L.M.; TADA, M.S.; FERREIRA, R.G.M.; PEREIRA-DA-SILVA, L.H. *Cross-reactive anti-PfCLAG9 antibodies in the sera of asymptomatic parasite carriers of Plasmodium vivax.* **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 1, p. 98-105, February 2013.
- 02 KATSURAGAWA, T.H.; GIL, L.H.S.; DE LIMA, A.A.; FREITAG, E. M.; DOS SANTOS, T. M.; FILHA, M.N.; SANTOS JÚNIOR, A.P.J.; DA SILVA, J.M.; RODRIGUES, A.F.; TADA, M.S.; FONTES, C.J.; PEREIRA-DA-SILVA, L.H. *Selective intermittent preventive treatment of vivax malaria promotes a major reduction of malaria incidence in a open cohort study in localities of the.* **Malaria Research & Treat**, 2013.
- 03 DOS SANTOS, A.P.A.; PACHECO, S.G.; TELES, C.B.G.. Efeito leishmanicida *in vitro* do látex de *Croton lechleri* (Euphorbiaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 2014.
- 04 GONCALVES, A.P.P.; VIEIRA, G.D.; CUNHA, P.N.A.; HERNANDEZ, A.F.; TELES, C.B.G.. Avaliação da atividade antimicrobiana e prospecção fitoquímica dos extratos de *Solanum subinerme Jacq* (Solanaceae). **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, 2014.

##### 4.2. Artigos Submetidos

- 01 TELES, C.B.G.; MOREIRA-DILL, L.S.; SILVA, A.A.; FACUNDO, V.A.; DE AZEVEDO JR, W.F.; SILVA, L.H.P.; MOTTA, M.C.C.; STÁBELI, R.G.; SILVA-JARDIM, I. A lupane-triterpene isolated from *Combretum leprosum* Mart. fruit extracts that interferes with the intracellular development of *Leishmania (L.) amazonensis in vitro*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 2014.
- 02 MENEGUETTI, D.U.O.; CUNHA, R.M. LIMA, R.A.; OLIVEIRA, F.A.S.; MEDEIROS, D.S.S.; PASSARINI, G.M.; MEDEIROS, P.S.M.; MILITÃO, J.S.L.T.; FACUNDO, V.A Antimalarial ethnopharmacology in the Brazilian Amazon. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 2014.
- 03 BAY-HURTADO, F.; DE MEDEIROS, D.S.S.; LIMA, R.A.; DA SILVA, G.V.J.; MILITÃO, J.S.K.T.; FREITAG, E.M.; DE MEDEIROS, P.S.M.; FACUNDO, V.A.. Avaliação *in vitro* da atividade citotóxica e antimalárica de chichuá (*Maytenus guianensis Klotzsch*). **Acta Amazônica** em 2014.
- 04 HOLANDA, R.J.; DEVES, C.; DILL, L.S.M.; MARTTINELLI, L.K.B.; CALDERON, L.A.; FERNANDES, C.C.; MEDEIROS, P.S.M.; HONDA, E.R.; STABELI, R.G.; SANTOS, D.S.; PEREIRA DA SILVA, L.H. *Plasmodium falciparum* purine nucleoside phosphorylase (PNP, EC 2.1.2.4) as model to search for new inhibitors by high throughput screening. **BBA General Subjects**, 2014.

##### 4.3. Resumos

- 01 01 RENATO A. LIMA, FERNANDA B. HURTADO, DANIEL S. S. MEDEIROS, PATRÍCIA S. M. MEDEIROS, JÚLIO S. L. T. MILITÃO, VALDIR A. FACUNDO. Avaliação da atividade citotóxica frente a células HepG2 da entrecasca de *Maytenus guyanensis* (Celastraceae). In: 64º Congresso Nacional de Botânica e XXXIII Encontro Regional de Botânicos MG, BA e ES. Belo Horizonte/MG, 2013.
- 02 02 DANIEL SOL SOL DE MEDEIROS, FERNANDA BAY HURTADO, VALDIR ALVES FACUNDO, PATRÍCIA SOARES DE MARIA DE MEDEIROS. Análise preliminar da atividade antiplasmodial da entrecasca de *Maytenus guianensis*. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia – III Encontro de Parasitologia do Mercosul, Florianópolis/SC, 2013.

- 03 DOS SANTOS, A.P.A; PACHECO, S.G.; TELES, C.B.G.. Efeito *leishmanicida in vitro* do látex de *Croton lechleri Muell Arg* (Sangue de Dragão) contra *L. amazonensis* e *L. guyanensis*. 2014. (Apresentação de Trabalho/Congresso). In: 50º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014.
- 04 MEDEIROS, D.S.S.; LIMA, R.A.; MENEGUETTI, D.U.O.; OLIVEIRA, F.A.S.; CARNEIRO, F.A.M.; FREITAG, E.M.; LUZ, C.C.; MILITAO, J.S.L.T.; FACUNDO, V.A.; MEDEIROS, P.S.M.. Análise da bioatividade *in vitro* de extratos da casca de *Maytenus guyanensis* contra *Plasmodium falciparum*. In: 50º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014.
- 05 MEDEIROS, D.S.S.; MOREIRA, J.A.; BARALDI, P.T.; HUBER, P.C.; ROBELLO, L.G.; MEDEIROS, P.S.M.. Análise da bioatividade antimalárica de derivados da haloacetamida. In: 50º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014.
- 06 MENEGUETTI, D.U.O.; OLIVEIRA, F.A.S.; CARNEIRO, F.A.M.; FREITAG, E.M.; MEDEIROS, D.S.S.; MEDEIROS, P.S.M.; FACUNDO, V.A.. Atividade antiplasmodial da fração (acetato de etila) obtidos da entrecasca de *Maytenus guyanensis Klotzsch ex Reissek* (Celastraceae), Xixuá Amazônico. In: 50º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014.
- 07 PASSARINI, G.M.; MEDEIROS, D.S.S.; MENEGUETTI, D.U.O.; OLIVEIRA, F.A.S.; FREITAG, E.M.; CARNEIRO, F.A.M.; FACUNDO, V.A.; MEDEIROS, P.S.M.. Análise da bioatividade de extratos da planta *Combretum leprosum* contra *Plasmodium falciparum*. In: In: 50º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014.
- 08 MEDEIROS, D.S.S.; MOREIRA, J.A.; BARALDI, P.T.; SANTOS, S.M.; MEDEIROS, P.S.M.. Evaluation of antimalarial activity and cytotoxicity of quinoline-like compounds. In: Reunião Anual da SBPC; 66ª Reunião Anual da SBPC - Ciência e Tecnologia em uma Amazônia sem Fronteiras, 2014.

## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientações Concluídas

- 01 **Fosforilase de Nucleosídeos Purínicos PNP (E.C. 2.4.2.1) de *Plasmodium falciparum* como modelo para busca de novos inibidores a partir da técnica de ressonância plasmônica de superfície (SPR).** Projeto de doutorado do aluno Rudson de Jesus Holanda. A proteína PNP foi expressa e purificada em 2012. A sua atividade enzimática foi caracterizada em 2013 no Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose da Pontifícia Universidade Católica (INCT-PUC/RS), posteriormente a proteína foi utilizada em *screening* de compostos ligantes através da técnica de ressonância plasmônica de superfície (SPR). Orientador: Dr. Luiz Hildebrando Pereira da Silva. Tese concluída 2014.
- 02 **Utilização da enzima  $\beta$ -cetoacil ACP redutase (OAR) da via FAS II de *Plasmodium falciparum* como um alvo para busca de novos compostos antimaláricos.** Projeto de doutorado da aluna Andrea Fagundes Grava. O principal objetivo é a expressão e purificação da proteína FabG de *P. falciparum* como alvo em potencial para identificação, por intermédio da técnica de SPR, de compostos naturais selecionados da biodiversidade amazônica, com atividade inibitória contra a mesma. Foram testadas em 2013 a bioatividade de 41 extratos vegetais e 3 compostos biossintéticos contra *P. falciparum*. Dentre estes 13 amostras dos extratos vegetais e 1 de composto sintético apresentaram IC50 < 20,0  $\mu$ g/mL. Orientador: Dr. Spartaco A. Filho. Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Tese concluída em 2014.
- 03 **Análise da bioatividade *in vitro* de extratos da casca de *Maytenus guianensis* contra *Plasmodium falciparum*.** Projeto PIBIC/ UNIR aluno Daniel Sol Sol De Medeiros. Orientadora: Dra. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Projeto concluído 2014.
- 04 **Avaliação da bioatividade de extratos vegetais contra *Plasmodium falciparum in vitro*.** Projeto PIBIC/ FIOCRUZ aluna Flávia Aparecida Menezes Carneiro. Orientador: Dr<sup>a</sup>. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Projeto concluído 2014.
- 05 **Análise da bioatividade de extratos da planta *Combretum leprosum* contra *Plasmodium falciparum*.** Projeto PIBIC/ UNIR e Trabalho de conclusão de curso do aluno Guilherme Matos Passarini. Orientador: Dr<sup>a</sup>. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Projeto concluído 2014.
- 06 **Avaliação da atividade antimalárica de derivados de Quinolina em sistemas *in vitro* e *in vivo*.** Trabalho de conclusão de curso/ Graduação em Ciências Biológicas - UNIR do aluno Daniel Sol Sol de Medeiros. Orientador: Dr<sup>a</sup>. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Projeto concluído 2014.

## 5.2. Orientações em Andamento

- 01 **Análise in vitro da bioatividade de extratos e substâncias isoladas de *Piper tuberculatum* (Müll. arg), contra cepas de *Plasmodium falciparum*.** Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental/ UNIR) aluno Flávio Augusto de Souza Oliveira. Orientador: Dr. Valdir Alves Facundo. Co-orientadora: Dra. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Início: 2014.
- 02 **Avaliação da bioatividade da planta *Piper tuberculatum* contra *Plasmodium falciparum* in vitro.** PIBIC/ UNIR aluna Pollyana Carla Torres. Orientador: Dra. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Início: 2014.
- 03 **Avaliação da bioatividade do veneno de *Micrurus spixii* contra *Plasmodium falciparum* in vitro.** PIBIC/ UNIR aluno Aniel Luna de Lima Chagas Musa. Orientador: Dra. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Início: 2014.
- 04 **Avaliação da bioatividade de extratos animais contra *Plasmodium falciparum* in vitro.** PIBIC/ Fiocruz aluno Ygor Riquelme Antunes. Orientador: Dra. Patrícia Soares de Maria de Medeiros. Início: 2014.
- 05 **Perfil da Atividade Enzimática de Peçonha de *Micrurus spixii*.** Tese (Doutorado em Biologia Experimental/ UNIR) aluno Angelo Laurence Covatti Terra. Orientador: Dr. Andreimar M. Soares. Início: 2011.

# LABORATÓRIO DE BIOINFORMÁTICA E BIOESTATÍSTICA

Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia



## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1 Pesquisador Principal

Dr. Fernando Berton Zanchi (Pesquisador Chefe)  
<http://lattes.cnpq.br/0564343474986429>

### 1.2 Equipe

Dr. Fernando Berton Zanchi/Fiocruz/Pesquisador  
Dr. Ricardo de Godoi Mattos Ferreira/Fiocruz/Pesquisador  
André Grecco Carvalho/UNIR/Mestrando  
Ednaldo Teixeira da Silva/Fiocruz/Analista

### 1.3. Colaborações Nacionais

Dr. Rafael Caceres (PUCRS)  
Dr. Luiz Augusto Basso (PUCRS)  
Dr. Spartaco Astolfi Filho - REALGENE-UFAM  
Dra. Carla Freire Celedônio Fernandes/Fiocruz/Pesquisador  
Dr. Leonardo de Azevedo Clderon (CEBio, Fiocruz Rondônia)

## 2. Infraestrutura

01 Servidor Quad-Core DELL 3GHZ 8Gb de memória e 1TB HD,  
04 Estações Intel i5,  
01 Mesa Corporativa.

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de Pesquisa

**Estudos *in silico* e *in vitro* para a identificação de novos inibidores de alvos enzimáticos de *Plasmodium falciparum*:** Verificar através de ferramentas de Bioinformática a viabilidade dentre milhares de moléculas aquelas que possam funcionar como inibidores enzimáticos. Tem como esperado a seleção e proposição de candidatos a inibidores ou compostos líderes para desenvolvimento posterior para testes *in vitro* contra enzimas de *P. falciparum*.

## Identificação de Epítomos e regiões varáveis de anticorpos através da Modelagem e Docking

**Molecular da interação Antígeno-Anticorpo:** Analisar regiões proteicas de patógenos tropicais através de ferramentas específicas de Bioinformática objetivando apontar sequências de aminoácidos que funcionem como epítomos. Espera-se com isso determinar possíveis fragmentos de aminoácidos que sejam úteis ao diagnóstico imunoenzimático.

### 3.2. Projetos

#### a. Projetos de Pesquisa em Andamento

##### **Prospecção e avaliação *in silico* aplicados à identificação e teste *in vitro* de potenciais fármacos contra alvos enzimáticos de *Plasmodium falciparum***

Objetiva aplicar técnicas de Bioinformática como a Modelagem Molecular, o Virtual Screening (VS), o Docking e a Dinâmica Molecular (DM) para analisar alvos proteicos do *Plasmodium falciparum* (Pf) assim como bibliotecas de moléculas visando identificar novos possíveis candidatos a fármacos com redução do tempo e dos custos envolvidos no seu planejamento. Esta estratégia envolve a análise de grandes bases virtuais de compostos através de métodos computacionais com o objetivo de identificar um pequeno subgrupo de compostos que podem ser adquiridos através de representantes comerciais ou de síntese orgânica para avaliação da atividade biológica. Portanto, a triagem e análise virtual permite a seleção de milhares de compostos, que são submetidos a grande número de testes biológicos automatizados. O VS pode variar entre a simples triagem de moléculas com determinadas propriedade físico-químicas até a realização de estudos de *docking* seguido de DM das moléculas no alvo (receptor, enzima). Nesta abordagem usa-se inicialmente quatro alvos enzimáticos de rotas vitais ao Pf para seleção dentre aproximadamente 10.000 moléculas que sirvam de testes para potenciais fármacos.

##### **Prospecção, Caracterização e Prototipagem de Agentes de Ação Antimalárica e Inseticida a Partir da Biodiversidade da Amazônia Legal.**

O presente projeto tem o objetivo identificar, isolar e produzir, em nível experimental, protótipos de novas drogas derivadas de moléculas de origem vegetal, animal e microbiana oriundas da biodiversidade brasileira, ou especificamente sintetizadas, ativas contra alvos moleculares de vias metabólicas particulares de parasitas da malária humana e de seus respectivo vetor inseto, o *Anopheles darlingi*. O material de partida para o *screening* serão extratos de plantas, secreções e venenos de animais, metabólitos secretados por microrganismos endofíticos e actinomicetos oriundos em sua maioria da biodiversidade amazônica, e também compostos produzidos ou modificados por síntese química. A atividade anti-parasitária e/ou anti-vetorial dos produtos desenvolvidos, sejam estes obtidos por purificação clássica, detectados e isolados por ressonância plasmônica de superfície (SPR), ou sintetizados, serão analisados *in vitro* na forma livre ou nanoencapsulados utilizando-se modelos de culturas celulares, e em infecções experimentais *in vivo*, quando testados contra os parasitas, ou contra os vetores respectivos em suas diferentes fases de desenvolvimento. Paralelamente serão realizados experimentos de *screening* virtual, utilizando ferramentas de *docking* e dinâmica molecular para identificação de substâncias capazes de interagir com o centro ativo de enzimas identificadas com alvos validados, onde serão utilizadas estruturas moleculares conhecidas depositadas em bancos de dados disponíveis, que serão adquiridas por fornecedores comerciais para realização de testes quanto suas reais capacidades de inibição das enzimas e potencial diminuição/eliminação da parasitemia em ensaios *in vitro* e *in vivo*. Os protótipos serão desenvolvidos a partir das moléculas líderes identificadas que servirão de base para a síntese de compostos químicos variantes que também serão testados quanto suas atividades anti-parasitárias. Em resumo, o objetivo da presente proposta é gerar protótipos anti-maláricos. Responsável: Rodrigo Guerino Stábeli. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de

### 4. Publicações

#### 4.1 Artigos Publicados em Revistas Indexadas

- 01 Costa, J.D.; Zanchi, F.B.; Rodrigues, F.L.; Honda, E.R.; Katsuragawa, T.H.; Pereira, D.B.; Taborda, R.L.; Tada, M.S.; Ferreira, R.G.; Pereira-da-Silva, L.H. Cross-reactive anti-PfCLAG9 antibodies in the sera of asymptomatic parasite carriers of *Plasmodium vivax*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 2013.
- 02 de Oliveira, M. D., de Oliveira M. D., Dutra N. R., França Rafael F. O., Honda E. R., Zanchi F.B., Neves C. A., da Silva C. C., da Fonseca B.A. L., and De Paula S. O. Enhancement of Dengue-2 E Protein Expression by the Expression of the Precursor Membrane Protein (Prm) of the Dengue-3 Virus. Journal of Vaccines & Vaccination, v. 04, p. 1-8, 2013.



### **4.3. Artigos em Preparação**

- 01 Zanchi, F.B.; Caceres, R.A.; Honda, E.R.; Pereira-da-Silva, L.H.; Ferreira R. de G. M. ;QSAR modeling of triclosan analogues against malária.
- 02 Carvalho A. G., Caceres R. A., da Silva E. T., Ferreira R. de G. M., Zanchi, F.B.; Molecular dynamics studies of hypoxanthine-guanine-xanthine phosphoribosyltransferase from Plasmodium falciparum FCR3/Gambia.

## **5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS**

### **5.1. Orientações em Andamento**

- 01 ANDRÉ GRECCO CARVALHO. Mestrado. Molecular dynamics studies of hypoxanthine-guanine-xanthine phosphoribosyltransferase from Plasmodium falciparum FCR-3/Gambia. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Fernando Berton Zanchi.

# LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA APLICADA À SAÚDE



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1 Pesquisador Principal

Dr. Roberto Nicolete (Pesquisador em Saúde Pública)  
<http://lattes.cnpq.br/0447073555893530>

### 1.2 Equipe

Amália dos Santos Ferreira (IC-PIBIC FIOCRUZ)  
Elisângela Santos (IC-PIBITI FIOCRUZ)  
Fernando Menezes (técnico do Estado (CEPEM))  
João Gabriel Ribeiro (doutorando PGBioexp-UNIR)  
João Rafael Valentin (doutorando Rede Bionorte)  
Neuza Biguinati de Barros (técnica nível superior FIOTEC e doutoranda Rede Bionorte),  
Sharon Rose Aragão (doutoranda PGBioexp-UNIR)

### 1.3. Colaboração Internacional

Maria Jesus Sanz Ferrando (Valência, Espanha)

### 1.4. Colaborações Nacionais

Flávia Raquel Fernandes do Nascimento (UFMA)  
Rosane Nassar Guerra (UFMA)  
Pietro Ciancaglini (FFCLRP – USP)  
Anselmo Fortunato Ruiz (UFAC)  
Fernando Escócio Drumond UFAC)  
Fernando Batista da Costa (FCFRP-USP RP)  
Ana Cláudia Amaral (Farmanguinhos – Fiocruz)  
Luiz Alberto Kanis (UNISUL – SC)  
Christian Collins (UNIR)  
Giselle M. Gonçalves (UNIR)  
Andreimar Martins Soares (CeBio Fiocruz RO)  
Leonardo de Azevedo Calderon (CeBio Fiocruz RO)  
Rodrigo Guerino Stábeli (CeBio Fiocruz RO)

## 2. INFRAESTRUTURA

Área contempla bancadas para experimentação, 2 cabines de fluxo laminar (nível 2), estufa CO<sub>2</sub> para cultura de células, estufa B.O.D., geladeira, freezer, 2 centrífugas refrigeradas, balança analítica, espectrofotômetro, escritório.

Homogeneizadores Ultra Turrax e equipamento para caracterização de micro e nanopartículas (ZetaSizer Nano ZS, Malvern).

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de pesquisa

São desenvolvidos projetos de pesquisa em Imunologia, quimioterapia das leishmanioses e câncer. As linhas principais de pesquisa envolvem estudos sobre quimioterapia (moléculas isoladas de plantas e animais) e quimioprofilaxia (desenvolvimento de vacinas utilizando análise proteômica) para combate à leishmaniose cutânea.

São desenvolvidos e caracterizados protótipos envolvendo a micro/nanotecnologia para terapia experimental das leishmanioses e câncer.

### 3.2. Projetos

#### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE MICRO/NANOPARTÍCULAS FUNCIONALIZADAS COM BIOATIVOS DE VENENOS DE ANIMAIS AMAZÔNICOS PARA QUIMIOTERAPIA EM LEISHMANIOSES.** Responsável: Roberto Nicolete. Descrição: O projeto objetiva ao desenvolvimento, caracterização e aplicação de micro/nanopartículas funcionalizadas com toxinas de serpentes para tratamento alternativo contra leishmaniose cutânea. Equipe: Sharon Rose Aragão, Amália Ferreira dos Santos, Giselle Gonçalves. Instituição de Fomento: PAPES – FIOCRUZ/CNPq (407540/2012-1).

**PROSPECÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E PROTOTIPAGEM DE AGENTES DE AÇÃO ANTIMALÁRICA E INSETICIDA A PARTIR DA BIODIVERSIDADE DA AMAZÔNIA LEGAL.** Responsável: Rodrigo Guerino Stábeli. Descrição: O presente projeto tem o objetivo identificar, isolar e produzir, em nível experimental, protótipos de novas drogas derivadas de moléculas de origem vegetal, animal e microbiana oriundas da biodiversidade brasileira, ou especificamente sintetizadas, ativas contra alvos moleculares de vias metabólicas particulares de parasitas da malária humana e de seus respectivo vetor inseto, o *Anopheles darlingi*. O material de partida para o screening serão extratos de plantas, secreções e venenos de animais, metabólitos secretados por microrganismos endofíticos e actinomicetos oriundos em sua maioria da biodiversidade amazônica, e também compostos produzidos ou modificados por síntese química. A atividade anti-parasitária e/ou anti-vetorial dos produtos desenvolvidos, sejam estes obtidos por purificação clássica, detectados e isolados por ressonância plasmônica de superfície (SPR), ou sintetizados, serão analisados *in vitro* na forma livre ou nanoencapsulados utilizando-se modelos de culturas celulares, e em infecções experimentais *in vivo*, quando testados contra os parasitas, ou contra os vetores respectivos em suas diferentes fases de desenvolvimento. Paralelamente serão realizados experimentos de screenig virtual, utilizando ferramentas de docking e dinâmica molecular para identificação de substâncias capazes de interagir com o centro ativo de enzimas identificadas com alvos validados, onde serão utilizadas estruturas moleculares conhecidas depositadas em bancos de dados disponíveis, que serão adquiridas por fornecedores comerciais para realização de testes quanto suas reais capacidades de inibição das enzimas e potencial diminuição/eliminação da parasitemia em ensaios *in vitro* e *in vivo*. Os protótipos serão desenvolvidos a partir das moléculas líderes indetificadas que servirão de base para a síntese de compostos químicos variantes que também serão testados quanto suas atividades anti-parasitárias. Em resumo, o objetivo da presente proposta é gerar protótipos anti-maláricos. Equipe: Rodrigo Guerino Stábeli, Andreimar Martins Soares, Leonardo de Azevedo Calderon, Juliana Pavan Zuliani, Pietro Ciancaglini, Roberto Nicolete. Instituição de Fomento: CNPq.

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO CLÍNICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR RELACIONADA ÀS ESPÉCIES DE LEISHMANIA SPP. EM RONDÔNIA.** Responsável: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira. Descrição: O projeto objetiva obter dados epidemiológicos das espécies de *Leishmania* responsáveis pelos casos em Rondônia; coletar dados clínico-epidemiológicos dos pacientes atendidos e que apresentarem diagnóstico sugestivo de TTA; relacionar as características clínicas dos pacientes com a espécie do parasita; verificar a correlação entre as espécies identificadas e os locais de infecção na procedência dos pacientes; verificar a eficiência à terapêutica aplicada e possíveis relações de resistência ou susceptibilidade com a espécie de *Leishmania*. Equipe: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira, Roberto Nicolete, Lilian Mota Cantanhede, Elisa Cupolillo. Instituição de Fomento: CNPq.

**AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA DE ANTÍGENOS DE *Leishmania amazonensis*: BIOTECNOLOGIA PARA PRODUÇÃO DE PROTÓTIPOS VACINAIS BASEADOS NA MICRO/NANOTECNOLOGIA.** Responsável: Roberto Nicolete. Descrição: Chamada: Universal 14/2013 - Faixa A - até R\$ 30.000,00 N° do Processo: 470455/2013-6. O projeto será direcionado em duas vertentes: a primeira será a análise proteômica de antígenos de membrana de *L. amazonensis* para a seleção de subunidades antigênicas definidas. A segunda vertente será o desenvolvimento e caracterização de micro/nanopartículas poliméricas biodegradáveis de PLGA contendo os antígenos definidos conforme mencionado acima. Situação: Em andamento. Alunos envolvidos: João Gabriel Ribeiro, Sharon Rose Aragão, Neuza Biguinati de Barros.

**AVALIAÇÃO DA CROTAMINA DE *Crotalus durissus terrificus* COMO FERRAMENTA PARA CARREAMENTO DE DROGAS ANTILEISHMANIAIS.** Responsável: Roberto Nicolete. Descrição: Chamada: MS/CNPq/PPSUS 2013 - R\$ 51.000,00. O projeto visa ao desenvolvimento de novos carreadores intracelulares para fármacos anti-leishmania, utilizando como ferramenta a toxina crotamina isolada da serpente *Crotalus durissus terrificus*. Situação: Em andamento. Alunos envolvidos: João Rafael Valentim, Sharon Rose Aragão, Neuza Biguinati de Barros.

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA POLARIZAÇÃO DE MACRÓFAGOS POR AGENTES INFECCIOSOS, TUMORES E IMUNOMODULADORES NATURAIS SOBRE A SUSCEPTIBILIDADE DE HOSPEDEIROS EM DIFERENTES MODELOS EXPERIMENTAIS.** Responsável: Flávia Raquel Fernandes do Nascimento. Descrição: Chamada: Pronex/CNPq/FAPEMA 2014 - R\$ 150.000,00. Situação: Em andamento. Alunos envolvidos: Sharon Rose Aragão, Neuza Biguinati de Barros.

#### 4. PUBLICAÇÕES

##### 4.1 Artigos Publicados em Revistas Indexadas/DOI

- 01 de Moura AA, Kayano AM, Oliveira GA, Setúbal SS, Ribeiro JG, Barros NB, Nicolete R, Moura LA, Fuly AL, Nomizo A, da Silva SL, Fernandes CF, Zuliani JP, Stábeli RG, Soares AM, Calderon LA. Purification and biochemical characterization of three myotoxins from *Bothrops mattogrossensis* snake venom with toxicity against *Leishmania* and tumor cells. *Biomed Res Int.* v. 95356, 2014 doi: 10.1155/2014/195356.
- 02 PEREIRA, P. A. T.; NICOLETE, R.; Trindade, B.C.; SECATTO, A.; Peres-Buzalaf, C; Ramos, SG; Sadikot, R; Bitencourt, Claudia da S.; FACCIOLI, L.H. Celecoxib Improves Host Defense through Prostaglandin Inhibition during *Histoplasma capsulatum* Infection. *Mediators of Inflammation*, v. 2013, p. 1-11, 2013.
- 03 Barros, NB ; NICOLETE, R.; Migliaccio, V; FACUNDO, V.; CIANCAGLINI, P.; Stabeli, RG SILVA-JARDIM, I. Liposomal-lupane system as alternative chemotherapy against cutaneous leishmaniasis: Macrophage as target cell. *Experimental Parasitology*, v. 135 (2), p. 337-43, 2013.
- 04 de Oliveira, JFF ; GARRETO, D.V.; SILVA, M.C.P.; FORTES, T.S.; OLIVEIRA, R. B.; Nascimento, FRF; COSTA, F. B.; Grisotto, MAG; NICOLETE, R. Therapeutic potential of biodegradable microparticles containing *Punica granatum* L. (pomegranate) in murine model of asthma. *Inflammation Research*, v. 62 (11), p. 971-80, 2013.

##### 4.2. Artigos submetidos

- 01 Macedo, SRA; Barros, NB; Ferreira, AS; Moreira-Dill, LM; Calderon, LA; Soares, AM; Nicolete, R. Biodegradable microparticles functionalized with crotamine isolated from *Crotalus durissus terrificus* display antileishmanial activity in vitro, in press, 2014.  
Priscilla Aparecida Tartari Pereira, Claudia da Silva Bitencourt, Daiane Fernanda dos Santos, Roberto Nicolete, Guilherme Martins Gelfuso, Lúcia Helena Faccioli. Prostaglandin D2-loaded microparticles as a new approach to control in vitro inflammatory response, 2014.
- 02 Nicolete, Guilherme Martins Gelfuso, Lúcia Helena Faccioli. Prostaglandin D2-loaded microparticles as a new approach to control in vitro inflammatory response, 2014.  
Priscilla Aparecida Tartari Pereira, Claudia da Silva Bitencourt, Daiane Fernanda dos Santos, Roberto Nicolete, Guilherme Martins Gelfuso, Lúcia Helena Faccioli. Prostaglandin D2-loaded microparticles as a new approach to control in vitro inflammatory response, 2014.
- 03

##### 4.3. Resumos

- 01 Cantanhede, I; NICOLETE, R. ; Ferreira, RGM . LEISHMANIA SPECIES IDENTIFICATION AND LEISHMANIA VIRUS DETECTION ON CLINICAL SAMPLES FROM CUTANEOUS AND MUCOCUTANEOUS LEISHMANIASIS PATIENTS IN RONDÔNIA, WESTERN AMAZONIAN REGION. 5Th World Leish, Porto de Galinhas – PE, 2013.
- 02 RIBEIRO, J. G.; NICOLETE, R. PARTIAL PROTEOMIC IDENTIFICATION OF MEMBRANE PROTEINS FROM *LEISHMANIA AMAZONENSIS* AS AN APPROACH TO CONFER PROTECTIVE IMMUNE RESPONSE AGAINST CUTANEOUS LEISHMANIASIS. 5Th World Leish, Porto de Galinhas – PE, 2013.

- 03 Aragão, SR; NICOLETE, R. . BIODEGRADABLE MICROPARTICLES FUNCTIONALIZED WITH ANIMAL TOXINS: CHARACTERIZATION AND POTENTIAL APPLICATION IN THE TREATMENT OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS. 5Th World Leish, Porto de Galinhas – PE, 2013.

## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientação em Pós-Graduação

#### Orientações Concluídas

- 01 01. Jéssica Francisca Fernandes de Oliveira. Mestrado. Título: Avaliação do potencial terapêutico de micropartículas biodegradáveis contendo *Punica granatum* (Romã) em modelo de asma murina. Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária – Universidade CEUMA, São Luís – MA, 2013. Orientador: Roberto Nicolete.
- 02 02. Sharon Rose Aragão Macedo. Mestrado. Título: NANOPARTÍCULAS BIODEGRADÁVEIS FUNCIONALIZADAS COM TOXINA DE ANURO: CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. 2014. Orientador: Roberto Nicolete.

#### Orientações em Andamento

- 01 Sharon Rose Aragão Macedo. Doutorado. Título: Avaliação da atividade antileishmania de compostos isolados de *Maytenus guianensis* incorporados em micropartículas poliméricas de PLGA. Início: 2014. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Roberto Nicolete.
- 02 João Gabriel Ribeiro. Doutorado. AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA DE ANTÍGENOS DE Leishmania amazonensis: BIOTECNOLOGIA PARA PRODUÇÃO DE PROTÓTIPOS VACINAIS COMPOSTOS DE MICRO/NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS BIODEGRADÁVEIS. Início: 2013. Tese (Doutorado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia. (Orientador).
- 03 João Rafael Valentim. Doutorado. Título: AVALIAÇÃO DA CROTAMINA DE *Crotalus durissus terrificus* COMO FERRAMENTA PARA CARREAMENTO DE DROGAS ANTILEISHMANIAIS. Início: 2014. PPG Bionorte. Orientador: Roberto Nicolete.
- 04 Neuza Biguinati de Barros. Doutorado. Título: TOXINAS DE Bothrops jararacuçu ENCAPSULADAS EM LIPOSSOMAS COMO TERAPIA ALTERNATIVA PARA LEISHMANIOSE CUTÂNEA: ESTUDOS DE CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO BIOLÓGICA. Início: 2014. PPG Bionorte. Orientador: Roberto Nicolete.
- 05 Elisângela Santos Silva. Iniciação Científica. DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS FUNCIONALIZADAS PARA APLICAÇÃO TERAPÊUTICA NA LEISHMANIOSE CUTÂNEA. Início: 2014. Programa PIBITI-Fiocruz.
- 06 Michelle Russo Bendelak Uchoa. Doutorado. Título: ESTUDO IMUNOFARMACOLÓGICO DO EXTRATO DE *Euphorbia Tirucalli Linneau* EMPREGANDO MODELOS EXPERIMENTAIS IN VITRO E IN VIVO DE VITILIGO. Doutorado em Biotecnologia - Rede de Pesquisa Bionorte. Co-orientador: Roberto Nicolete.
- 07 Larissa Deadame de Figueiredo Nicolete. Doutorado. Título: ASPECTOS DA ATIVAÇÃO LINFOCITÁRIA RELACIONADOS À INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE DELTA. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Co-orientador: Roberto Nicolete.

#### Supervisão de pós-doutorado

Monika Piazzon Tagliari. Início: 2014. Universidade Federal de Rondônia, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (PNPD-CAPEs)

# LABORATÓRIO DE ENGENHARIA DE ANTICORPOS



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1. Pesquisadores Principais

Dr<sup>a</sup>. Carla Freire Celedônio Fernandes

<http://lattes.cnpq.br/3922481112087617>

Dr<sup>a</sup>. Soraya dos Santos Pereira

<http://lattes.cnpq.br/5067608075094162>

Dr. Rodrigo Guerino Stábeli

<http://lattes.cnpq.br/9479420856670926>

### 1.2. Equipe

Nauanny Karem Rodrigues de Lima Silva, Faculdade São Lucas, Biomedicina

Marta Gabriela Barbosa S. Luz, FIMCA, Aluna de IC - PIBIC Fiocruz Rondônia

Érika Andrea Bastos Soares, Bolsista DTI CNPq

Naan Rodrigues Gonçalves, Mestrando, Bolsista CAPES

Marcela Cristina de Sousa Silva, Mestranda, Bolsista CNPq

Michelle Suelen da Silva Moraes, Faculdade São Lucas, Mestranda, Bolsista CAPES

MSc. Marcos Barros Luiz, PGBIOEXP, Doutorando, Bolsista CAPES

MSc. Michele Pereira da Silva, Bolsista DTI

MSc. Nidiane Dantas Reis Prado, Doutoranda PGBIOEXP, Bolsista CNPq

MSc. Andreilisse Arruda, Doutoranda BIONORTE, Bolsista CAPES

### 1.3. Colaborações Internacionais:

Dr. Luiz Shozo Ozaki – Virginia University

Prof. Dr. Joachim Geyer – Justus Liebig Universitaet

### 1.4. Colaborações Nacionais:

Dr. Andreimar Martins Soares, Fiocruz Rondônia

Dr<sup>a</sup>. Juliana Pavan Zuliani, UNIR e Fiocruz Rondônia

Dr. Leonardo de Azevedo Calderon, UNIR e Fiocruz Rondônia

Dr. Fernando Zanchi, Fiocruz Rondônia

Dr. Ricardo de Godoi Mattos Ferreira, Fiocruz Rondônia

Dr<sup>a</sup>. Deusilene Souza Vieira Dallacqua, Fiocruz Rondônia

Dr. Juan Miguel Villalobos Salcedo, UNIR e Fiocruz Rondônia

Dr<sup>a</sup>. Cláudia Nunes Duarte dos Santos, Instituto Carlos Chagas– ICC, Fiocruz Paraná

Dr<sup>a</sup>. Maribel Elizabeth Funes Huacca, UNIR

Dr<sup>a</sup>. Giselle Gonçalves, UNIR

Dr. Guilherme Alves Lepski, Faculdade de Medicina, USP São Paulo

Dr. Marcos Roberto de Mattos Fontes, UNESP São Paulo

Dr<sup>a</sup>. Marcia Gallacci, UNESP São Paulo

## 2. INFRAESTRUTURA

A subunidade dispõe de cerca de 80 m<sup>2</sup> divididos entre o Laboratório de Engenharia de Anticorpos e o Laboratório de Epidemiologia Genética. Entre os equipamentos disponíveis, estão: Agitadores orbitais para cultivo bacteriano, balança semi-analítica, banho-maria, cabine de Fluxo Laminar, centrífugas e microcentrifugas, espectrofotômetro, eletroporador, freezer - 80oC, incubadoras Orbital Shaker, pHmetro, sistemas de Eletroforese para proteínas e ácidos nucleicos, sistema de Fotodocumentação, termocicladores.

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de Pesquisa

Nanocorpos de camelídeos (VHH) como ferramenta de diagnóstico ou estratégia farmacológica para tratamento de doenças relacionadas à pobreza. Visando melhorar características farmacocinéticas, farmacodinâmicas e minimizar o aparecimento de reações de hipersensibilidade relacionadas ao uso clínico de imunoglobulinas, a engenharia molecular para produção de anticorpos vem buscando diminuir o tamanho das regiões de interação antígeno-anticorpo para fragmentos variáveis de cadeia única. Camelídeos produzem além de anticorpos convencionais, imunoglobulinas desprovidas de cadeia leve, onde as regiões para reconhecimento de antígenos são formadas por domínios únicos, denominados VHH ou nanocorpos. Estas estruturas possuem cerca de um décimo do peso molecular de anticorpos inteiros, estabilidade a variações de temperatura e pH, boa solubilidade, capacidade de neutralização viral, além de menor tempo de meia-vida quando comparados a anticorpos humanos ou murinos. Unindo as características apresentadas pelos nanocorpos à necessidade de desenvolvimento de outras estratégias farmacológicas para tratamento de doenças negligenciadas ou relacionadas a pobreza, a linha de pesquisa propõe a seleção de nanocorpos pela tecnologia *Phage Display*, previamente padronizada em nosso laboratório, para uso em soroterapia ou diagnóstico de doenças de origem viral ou ainda neutralização de efeitos tóxicos desencadeados por toxinas animais.

### 3.2. Projetos

#### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

**Nanocorpos de Camelídeos como Ferramenta de Diagnóstico ou Estratégia Farmacológica para Tratamento de Doenças de Origem Viral.** Em adição aos anticorpos convencionais, camelídeos produzem imunoglobulinas G compostas exclusivamente de cadeias pesadas, onde a região de reconhecimento antigênico é formado por domínios únicos, chamados VHH ou nanocorpos. Além do tamanho reduzido, esses fragmentos possuem boa capacidade de penetração tecidual e estabilidade a variações de temperatura e pH. Por meio da tecnologia *Phage Display* é possível, a partir de bibliotecas de VHH, selecionar fragmentos específicos que contribuam para neutralização ou diagnóstico de doenças virais. Responsável: Rodrigo Guerino Stábeli. Equipe: Carla Freire Celedônio Fernandes, Soraya Dos Santos Pereira, Guilherme Silverio De Oliveira, Michelle Suelen da Silva Morais, Michele Pereira da Silva, Luiz Hildebrando Pereira da Silva, Claudia Nunes Duarte dos Santos, Fernando Berton Zanchi, Leandro Soares Moreira Dill, Deusilene Souza Vieira Dallacqua, Juan Miguel Villalobos. Instituição de Fomento: CNPq 477760/2012-0.

**Fragmentos de Anticorpos de Camelídeos como Tratamento Alternativo para Casos de Envenenamento por Toxinas Animais.** Visando melhorar características farmacocinéticas, farmacodinâmicas e minimizar o aparecimento de reações de hipersensibilidade relacionadas ao uso clínico de imunoglobulinas, a engenharia molecular para produção de anticorpos vem buscando diminuir o tamanho das regiões de interação antígeno-anticorpo para fragmentos variáveis de cadeia única. Camelídeos produzem além de anticorpos convencionais, imunoglobulinas desprovidas de cadeia leve, onde as regiões para reconhecimento de antígenos podem ser reduzidas, de forma funcional, através da biotecnologia, a domínios únicos, denominados VHH ou nanocorpos. Estas estruturas possuem cerca de um décimo do peso molecular de anticorpos inteiros, estabilidade a variações de temperatura e pH, boa solubilidade, capacidade de neutralização de toxinas animais, além de menor tempo de meia-vida quando comparados a anticorpos humanos ou murinos. Unindo as características apresentadas pelos nanocorpos à necessidade de desenvolvimento de outras estratégias farmacológicas para tratamento de doenças negligenciadas, o projeto propõe a produção de nanocorpos, selecionados através da tecnologia *Phage Display* para uso em soroterapia visando a neutralização de efeitos miotóxicos locais e neurotóxicos sistêmicos desencadeados por toxinas ofídicas. Responsável: Carla Freire Celedônio Fernandes. Equipe: Soraya dos Santos Pereira, Nidiane Dantas Reis Prado, Marcos Barros Luiz, Andreimar Martins Soares, Rodrigo Guerino Stábeli, Juliana Pavan Zuliani, Leonardo de Azevedo Calderon, Marcos Roberto de Mattos Fontes, Anderson Makoto Kayano, Luiz Hildebrando Pereira da Silva, Marta Gabriela Barbosa S. Luz, Fernando Berton Zanchi, Leandro Soares Moreira Dill. Instituição de Fomento: CNPq.

**Utilização de leveduras para secretar peptídeos recombinantes no intestino do mosquito *Anopheles darlingi* como estratégia para o controle da malária.** Leveduras podem secretar peptídeos recombinantes e podem sobreviver no intestino de mosquitos. Logo, é possível que leveduras possam secretar peptídeos recombinantes no intestino de mosquitos. O objetivo do trabalho é estabelecer as condições para utilização de leveduras como sistema heterólogo para a produção de peptídeos bloqueadores do parasita da malária no intestino do mosquito vetor. Para isto será investigado: se a levedura *Pichia pastoris* sobrevive no intestino do mosquito *Anopheles darlingi*; o tempo de permanência de *P. pastoris* no intestino do mosquito; a presença de leveduras nativas no trato digestivo do mosquito *A. darlingi*; e será desenvolvido um sistema de expressão heteróloga utilizando leveduras que possa ser utilizado para secretar peptídeos bloqueadores da malária no intestino de mosquitos *A. darlingi*. Equipe: Andreisse Arruda, Rodrigo Guerino Stábeli, Luiz Shozo Ozaki. Instituição de fomento CNPq. 477760/2012-0.

**Nanocorpos de camelídeos como ferramenta para a construção de dispositivos de diagnóstico e alternativa ao tratamento do envenenamento ofídico.** Apresentáveis como monômeros ou estruturas multiméricas, fragmentos de anticorpos de cadeia pesada de camelídeos (VHH) são ferramentas biotecnológicas versáteis atrativas para o desenvolvimento de biossensores ou imunoterápicos. Com cerca de 421 mil notificações anuais e aproximadamente 20.000 mortes, o envenenamento ofídico é um relevante problema mundial de saúde pública. O diagnóstico é clínico-epidemiológico e o tratamento das vítimas realizado utilizando soro ou frações de imunoglobulinas de animais hiperimunizados. Além do alto custo de produção, a soroterapia não inibe efetivamente os danos teciduais desencadeados pelo veneno e pode desencadear reações adversas. Somando as características apresentadas pelos nanocorpos à necessidade de desenvolvimento de ferramentas úteis a um diagnóstico laboratorial rápido, preciso e de baixo custo e de estratégias farmacológicas alternativas ao tratamento do envenenamento ofídico, o presente trabalho propõe a produção de dispositivos de diagnóstico, bem como a caracterização funcional dos nanocorpos selecionados em nosso laboratório. Responsável: Carla Freire Celedonio Fernandes. Equipe: Soraya dos Santos Pereira, Maribel Elizabeth Funes Huacca, Andreimar Martins Juliana Pavan Zuliani, Fernando Berton Zanchi, Leonardo de Azevedo Calderon, Rodrigo Guerino Stabeli, Luiz Hildebrando Pereira da Silva, Giselle Martins Gonçalves, Ricardo de Godoi Mattos Ferreira, Leandro Soares Moreira Dill, Anderson Makoto Kayano, Érika Andréa Bastos Soares, Marcos Barros Luiz, Nidiane Dantas Reis, Michelle Pereira da Silva, Michelle Suelen da Silva da Moraes, Naan Rodrigues Gonçalves, Marcela Cristina de Souza Silva, Lilian Mota Cantanhede, Rudson de Jesus Holanda, Sulamita da Silva Setubal. Instituição de fomento: CNPq. 459046/2014-4.

## 4. PUBLICAÇÕES

### 4.1. Artigos Publicados

- 01 PEREIRA, S.S.; Moreira-Dill, L.S.; MORAES, M.S.S.; REIS, N.D.; LUIZ, M.B.; KOISHI, A.C.; MAZARROTTTO, G.A.C.A. ; GONCALVES, G.M. ; Zuliani, J.P.; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.; Pereira da Silva, L.H.; SANTOS, C.N.D.; FERNANDES, C.F.C. ; STABELI, R.G. Novel Camelid Antibody Fragments Targeting Recombinant Nucleoprotein of Aracaria hantavirus: a prototype for an Early Diagnosis of Hantavirus Pulmonary Syndrome. Plos One, v. 9, p. 1/e108067-11, 2014.
- 02 FERNANDES, C.F.C.; SCHWEICKARDT, J.C.; STABELI, R.G.; MORAIS, M.O.; GUILAM, M.C.R. ; LIMA, N.V.T. A contribuição da Fundação Oswaldo Cruz para o Ensino de Pós-graduação na Amazônia: Experiências nos Estados do Amazonas e Rondônia. RBPG. Revista Brasileira de Pós-Graduação, v. 11, p. 2358-2332, 2014.

### 4.2. Artigo aceito para publicação

- 01 MORAES, M.S.S.; PEREIRA, S.S.; STABELI, R.G.; FERNANDES, C.F.C. Engenharia de anticorpos na busca por fragmentos funcionais para insumos de diagnóstico e aplicações terapêuticas. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 2014.

### 4.1. Artigos em Preparação

- 01 01Prado, N.D.R; Pereira, S.S.; Silva, M.P; Morais, M.S.S.; Kayano A.M.; Moreira-Dill, L.S.; Barros, M.L.; Zanchi, F.B.; Fuly, A.L.; Calderon, L.A.; Zuliani, J. P.; Pereira-da-Silva, L.H; Soares, A.M.; Stábeli, R.G; Fernandes, C.F.C. *In vivo Inhibition of myotoxicity caused by Bothrops jararacussu Venom and Isolated Phospholipases by Specific Camelid Single-Domain Antibody Fragments.*
- 02 02Luiz, M.B.; Pereira, S.S.; Prado, N.D.R; Morais, M.S.S.; Zanchi, F.B.; Kayano A.M.; Moreira-Dill, L.S.; Fuly, A.L.; Calderon, L.A.; Zuliani, J. P.; Soares, A.M.; Stábeli, R.G; Fernandes, C.F.C. *Specific camelid single-domain antibody fragments as alternative tool to treat crotalic envenomation.*



## 4.2. Resumos

- 01 Silva, M.P.; Prado, N.D.R.; Pereira, S.S.; Kayano, A.M.; Soares, A.M.; Stabeli, R.G., Fernandes, C.F.C. Partial characterization of camelid nanobodies against Bothropstoxin-II, a myotoxin from *Bothrops jararacussu*. XXXVIII Congress of the Brazilian Society of Immunology, 2013.
- 02 Luiz, M.B.; Prado, N.D.R.; Pereira, S.S.; Moreira-Dill, L.S.; Kayano, A.M.; Soares, A.M.; Stábeli, R.G.; Fernandes, C.F. Nanobodies of camelid assets against crotoxin, a neurotoxin of the snake *Crotalus durissus terrificus*. 45 th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2013.
- 03 Prado, N.D.R.; Pereira, S.S.; Moraes, M.S.S.; Moreira-Dill, L.S.; Luiz, M.B.; Kayano, A.M.; Silva, L.H.P.; Soares, A.M.; Stábeli, R.G.; Fernandes, C.F. Snakebites envenomation and alternative serotherapy by camelid nanobodies. 45 th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2013.
- 04 Pereira, S.S.; Fernandes, C.F.C.; Prado, N.D.R.; Moraes, M.S.S.; Luiz, M.B.; Moreira-Dill, L.S.; Mazarotto, G.; Strottmann, D.M.; Soares, A.M.; Santos, C.N.D.; Stábeli, R.G. Camelid nanobodies, an alternative to diagnosis hantavirus infection. XXIV Congresso Brasileiro de Virologia, 2013.
- 05 Silva, M.P.; Pereira, S.S.; Botelho, L.F.; Holanda, R.J.; Stabeli, R.G.; Vieira, D.S.; Fernandes, C.F.C. Camelid nanobodies as a tool to detect hepatitis D virus. In: XXIV Congresso Brasileiro de Virologia, 2013.
- 06 Luiz, M.B.; Gonçalves, N.R.; Luz, M.G.S.; Prado, N.D.R.; Pereira, S.S.; Moreira-Dill, L.S.; Kayano, A.M.; Soares, A.M.; Zanchi, F.B.; Stábeli, R.G.; Fernandes, C.F.C. Production and selection of camelid nanobodies against crotoxin, a neurotoxin from *Crotalus durissus terrificus*. XXXIX Congresso f the Brazilian Society of Immunology, 2014.
- 07 Silva, M.P.; Prado, N.D.R.; Pereira, S.S.; Luz, M.G.S.; Soares, E.A.B.; Moreira-Dill, L.S.; Kayano, A.M.; Zuliani, J.P.; Calderon, L.A.; Pereira da Silva, L.H.; Soares, A.M.; Stábeli, R.G.; Fernandes, C.F. Camelid nanobodies as a tool to inhibit the toxicity induced by Bothropstoxin II, a phospholipase A2 of *Bothrops jararacussu*. XXXIX Congresso f the Brazilian Society of Immunology, 2014.
- 08 Luiz, M.B.; Silva, M.C.S.; Luz, M.G.S.; Pereira, S.S.; Prado, N.D.R. Moreira-Dill, L.S.; Kayano, A.M.; Soares, A.M.; Zanchi, F.B.; Stábeli, R.G.; Fernandes, C.F.C. Llama single domain antibodies (VHHs), an alternative for the treatment of the crotalic envenomation. XXXIX Congresso f the Brazilian Society of Immunology, 2014.
- 09 Luz, M.G.B.S; Pereira, S.S.; Fernandes, C.F.C. Seleção e caracterização parcial de domínios VHH de Imunoglobulinas G de cadeia pesada de Lama glama ativos contra crotoxina, uma neurotoxina da serpente *Crotalus durissus terrificus*. 22ª. RAIC, 2014.
- 10 Moraes, M.S.S.; Pereira, S.S. Caracterização parcial de domínios de VHH de imunoglobulinas G de cadeia pesada de Lama glama específicos para o vírus rábico. 22ª. RAIC, 2014.

## 4.4. Publicações Técnicas

- 01 Luiz, M.B.; Luz, M.G.B.S.; Pereira, S.S.; Kayano, A.M.; Stabeli, R.G.; Soares, A.M. and Fernandes, C.F.C. *Lama glama* clone 12 immunoglobulin heavy chain variable region mRNA, partial cds. (Sequencia de mRNA depositada no GenBank, accession number Kf498606).
- 02 Luiz, M.B.; Luz, M.G.B.S.; Pereira, S.S.; Kayano, A.M.; Stabeli, R.G.; Soares, A.M. and Fernandes, C.F.C. *Lama glama* clone 42 immunoglobulin heavy chain variable region mRNA, partial cds. (Sequencia de mRNA depositada no GenBank, accession number KF498605.1).
- 03 Luiz, M.B.; Luz, M.G.B.S.; Pereira, S.S.; Kayano, A.M.; Stabeli, R.G.; Soares, A.M. and Fernandes, C.F.C. *Lama glama* clone 16 immunoglobulin heavy chain variable region mRNA, partial cds. (Sequencia de mRNA depositada no GenBank, accession number KF498604.1).
- 04 Luiz, M.B.; Luz, M.G.B.S.; Pereira, S.S.; Kayano, A.M.; Stabeli, R.G.; Soares, A.M. and Fernandes, C.F.C. *Lama glama* clone 21 immunoglobulin heavy chain variable region mRNA, partial cds. (Sequencia de mRNA depositada no GenBank, accession number KF498603.1).
- 05 Luiz, M.B.; Luz, M.G.B.S.; Pereira, S.S.; Kayano, A.M.; Stabeli, R.G.; Soares, A.M. and Fernandes, C.F.C. *Lama glama* clone 17 immunoglobulin heavy chain variable region mRNA, partial cds. (Sequencia de mRNA depositada no GenBank, accession number KF498602.1).

## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientação Concluída

- 01 SORAYA DOS SANTOS PEREIRA. Doutorado. Produção e caracterização de nanocorpos contra proteína N de nucleocapsídeo de hanta vírus. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Rodrigo Guerino Stábeli; Co-orientador: Rodrigo Guerino Stábeli; Co-orientador: Carla Freire Celedonio Fernandes.
- 02 NIDIANE DANTAS REIS PRADO. Mestrado. Produção e caracterização parcial de nanocorpos de Lama glama (VHH) ativos contra toxinas da serpente *Bothrops jararacussu*. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.

- 03 MARCOS BARROS LUIZ. Mestrado. Nanocorpos de *Lama glama* (VHH) ativos contra toxinas da serpente *Crotalus durissus terrificus*. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 04 MICHELLE PEREIRA DA SILVA. Mestrado. Nanocorpo de camelídeo como ferramenta de diagnóstico para hepatite delta. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 05 SHIRLEI CRISTINA GOES SILVA. Iniciação Científica. Seleção e caracterização parcial de domínios VHH de imunoglobulinas G de cadeia pesada de *Lama glama* específicos para o vírus amarelo. Início: 2011. Iniciação científica (Graduando em Farmácia) - Faculdades Integradas Aparício Carvalho. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 06 MICHELLE SUELEN DA SILVA MORAIS. Iniciação Científica. Caracterização parcial de domínios de VHH de imunoglobulinas G de cadeia pesada de *Lama glama* específicos para o vírus rábico. Início: 2011. Iniciação científica (Graduando em Ciências Biológicas) - Faculdade São Lucas. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 07 MARTA GABRIELA BARBOSA S. LUZ, Iniciação Científica, Seleção e caracterização parcial de domínios VHH de Imunoglobulinas G de cadeia pesada de *Lama glama* ativos contra crotoxina, uma neurotoxina da serpente *Crotalus durissus terrificus*. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes. Co-orientador: Soraya dos Santos Pereira.

### 5.1. Orientação em Andamento

- 01 NIDIANE DANTAS REIS PRADO. Doutorado. Produção e caracterização parcial de nanocorpos de *Lama glama* (VHH) ativos contra toxinas da serpente *Bothrops jararacussu*. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 02 MARCOS BARROS LUIZ. Doutorado. Nanocorpos de *Lama glama* (VHH) ativos contra toxinas da serpente *Crotalus durissus terrificus*. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 03 MICHELLE SUELEN DA SILVA MORAIS. Mestrado. Caracterização parcial de domínios de VHH de imunoglobulinas G de cadeia pesada de *Lama glama* específicos para o vírus rábico. Início: 2011. Iniciação científica (Graduando em Ciências Biológicas) - Faculdade São Lucas. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 04 NAAN RODRIGUES GONÇALVES. Mestrado. Produção de nanocorpo contra toxinas crotálicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 05 MARCELA CRISTINA DE SOUZA SILVA. Mestrado. Produção e caracterização parcial de nanocorpos de *Lama glama* ativos contra B<sub>j</sub>ussuMP-II, uma metaloprotease isolada do veneno da serpente *Bothrops jararacussu*. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes.
- 06 NAUANNY KAREM RODRIGUES DE LIMA SILVA. Iniciação Tecnológica. Padronização de ensaios de expressão e purificação de nanocorpos de camelídeo ativos contra toxinas de serpente do gênero *Bothrops* e *Crotalus*. Orientador: Carla Freire Celedônio Fernandes. Co-orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.

## LABORATÓRIO DE ENTOMOLOGIA

Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia



### 1. RECURSOS HUMANOS

#### 1.1 Pesquisador Principal

Dr. Jansen Fernandes de Medeiros (Pesquisador-Chefe a partir de 06/2013)

<http://lattes.cnpq.br/5425946423248431>

Dr<sup>a</sup>. Genimar Rebouças Julião

<http://lattes.cnpq.br/9010904883568247>

Dr. Alexandre de Almeida e Silva

<http://lattes.cnpq.br/6440720566226268>

Msc Luiz Herman Soares Gil

<http://lattes.cnpq.br/8637818261254445>

Dr<sup>a</sup> Maísa da Silva Araújo

<http://lattes.cnpq.br/1036895487969696>

#### 1.2 Equipe

Frances Tatiane Tavares Trindade, Doutoranda – PGBIOEXP – UNIR

Moisés Santos de Souza, Doutorando -PBBIOEXP

Carla Ribeiro Figueiredo Zanin, Mestrado – PGBIOEXP - UNIR

Thais Costa dos Santos, Mestrando – PGBIOEXP - UNIR

Glaucilene da Silva Costa, Mestrando – PGBIOEXP – UNIR

Daiane Silva Barbosa, Mestrando-PGBIOEXP

Wanne Patrício Soares, IPEPATRO

Aline Andriolo, UNIR, Bolsista DTI

Alyne Cunha Alves, PIBIC – DTI-UNIR

Anne Caroline Alves Meireles, PIBIC - CNPq

Vanessa Márnei Prates de Jesus, DTI - UNIR

Lucas Rosendo da Silva - PIBIC-Fiocruz RO

Fábio Resadore - PIBIC-Fiocruz RO

Pricila Piltz de Souza – Bolsista Apoio Técnico CNPq

Raimundo Nonato Mendes Pinheiro, Auxiliar de Laboratório Fiocruz RO

Marlon Ferreira Simplicio, Auxiliar de Laboratório Fiocruz RO

Jayro Gomes de Souza, Auxiliar de Laboratório IPEPATRO

Sílvio Luiz de Araújo Santos, Auxiliar de Laboratório IPEPATRO

Marivaldo Magno Pereira da Silva, Auxiliar de Laboratório IPEPATRO

Luanderson Pinheiro, Auxiliar de Laboratório IPEPATRO

### 1.3. Colaborações Internacionais

Douglas Golenbock - University of Massachusetts Medical School, Worcester, USA.

Neal Silverman - University of Massachusetts Medical School, Worcester, USA.

Luiz Shozo Ozaki - Virginia Commonwealth University, VCU Richmond, Virginia, USA.

### 1.4. Colaborações Nacionais

Andreimar Soares, Fiocruz Rondônia

Leonardo Azevedo Calderon, Fiocruz Rondônia

Luiz Hildebrando Pereira da Silva, Ipepatro/Fiocruz Rondônia

Tony Hiroshi Katsuragawa, Fiocruz Rondônia

Deusilene Souza Vieira, Fiocruz Rondônia

Weber Cheli Batista, Fiocruz Rondônia

Mariluce Rezende Messias, UNIR – Porto Velho/RO

Rodrigo Guerino Stabeli, Fiocruz Rondônia

Valdir Alves Facundo - UNIR Porto Velho

Álvaro Eduardo Eiras, UFMG, Belo Horizonte/MG

Felipe Arley Costa Pessoa, Fiocruz Amazônia, Manaus/AM

Luis Marcelo Aranha Camargo, Universidade de São Paulo – Monte Negro/RO.

Nilson Ivo Tonin Zanchin, Fiocruz – Curitiba/PR

Newton Vidal - Fiocruz Curitiba/PR

Paulo Eduardo Martins Ribolla, UNESP - Botucatu/SP

Renata Antonaci Gama, UFRN - Natal-RN

Rui Alves de Freitas, INPA - Manaus/AM

Sérgio Luiz Bessa Luz, Fiocruz Amazônia - Manaus /AM

Simone Gnoatto – LAFIS- UFRGS

## 2. INFRAESTRUTURA

O Laboratório de Entomologia Médica ocupa um espaço físico aproximado de 150 m<sup>2</sup> distribuídos entre dois blocos laboratoriais. O primeiro bloco conta com uma sala de triagem de amostras de campo, com bancadas integradas, equipadas com estereomicroscópios, microscópios ópticos e uma balança digital. Neste bloco ainda localizam-se duas salas: a de pesquisadores e de alunos de Iniciação Científica e Pós-graduação em Entomologia. Ambas as salas possuem computadores e mesas de trabalho. Em anexo ao primeiro bloco, uma sala insetário destinada a criação e manutenção de culicídeos (mosquitos) oriundos de atividades de campo. Esse insetário possui uma cortina de ar, além de estantes de aço e termo-higrômetro digital. No segundo bloco existem três salas: uma delas para criação de *Anopheles darlingi* e colonização de *Aedes aegypti* e conta com cortina de ar, estantes, estufa entomológica e termo-higrômetro digital. Uma segunda sala com armários, bancadas e estereomicroscópios e microscópios para realização de atividades de rotina de triagem e identificação de insetos. E, por último uma sala integrada com equipamentos para realização de experimentos de Biologia Molecular como extração de ácidos nucléicos, PCR e eletroforese que dispõe de freezers, geladeiras, estufa, cabine de fluxo laminar, balança digital, cubas de eletroforese, termociclador, vortex, centrífuga, banho seco e nanodrop.

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de Pesquisas

- Ecologia de Vetores de Doenças Tropicais (leishmanioses, malária, dengue, febre amarela e outras arboviroses, filarioses, doença de chagas)
- Vigilância Entomológica e Epidemiológica
- Educação em Saúde
- Monitoramento de Vetores em áreas sob influência de grandes empreendimentos na Amazônia Brasileira
- Vigilância Entomológica em Áreas de Fronteiras da Amazônia Brasileira
- Bioprospecção de substâncias larvicidas, adulticidas e repelentes com ênfase em anofelinos
- Ecologia química aplicada a vetores
- Biologia Molecular aplicada

## 3.2. Projetos

### Projetos de Pesquisa em Andamento

**Monitoramento de Vetores de Importância Médica nas Áreas de Influência da Usina Hidrelétrica de Jirau: Levantamento Faunístico e Dinâmica Populacional – III.** Dentre as condicionantes para a instalação da UHE Jirau está o controle de doenças transmitidas por vetores que representam riscos a saúde dos habitantes locais, trabalhadores da hidrelétrica e principalmente aos residentes das áreas de influência direta e indireta. O presente estudo faz parte da execução do Projeto Básico Ambiental (PBA) do empreendimento em fase de construção e enchimento do reservatório, considerado fundamental para o suprimento de energia elétrica necessária ao desenvolvimento do país. O projeto é executado pelo Ipepatro e vem descrevendo e monitorando a fauna de vetores de interesse à saúde pública como malária, dengue, leishmaniose, doença de Chagas, arboviroses e filarioses, demonstrando as infecções naturais de alguns patógenos veiculados por estes vetores nas áreas de influência direta e indireta da UHE Jirau. Os objetivos específicos das investigações são: (i) Levantamento da fauna de vetores relacionados à transmissão de malária, dengue, leishmaniose, doença de Chagas, arboviroses, oncocercose e filariose; (ii) Caracterizar potenciais criadouros ou habitats dos vetores; (iii) Avaliar a dinâmica populacional dos vetores; (iv) Coleta do vetor da subfamília *Triatominae* (adultos e ninfas), por meio da metodologia descrita por Noireau et al (2002); (v) Estabelecer e georreferenciar sítios de capturas de adultos e imaturos dos diferentes vetores estudados na área; e (vi) Recomendar medidas de controle vetorial quando necessárias, a partir de resultados obtidos nos levantamentos através de relatórios enviados a contratante.

**Diversidade de Insetos em Rondônia: ênfase em mosquitos, flebotomíneos e coleópteros.** As florestas tropicais com apenas 7% da superfície terrestre contém mais da metade das espécies da biota mundial, dentre elas um dos mais importantes componentes da fauna são os insetos, com a maior diversidade conhecida e ocupando praticamente todos os nichos disponíveis, graças a sua imensa variação morfológica e capacidade de adaptação, caracterizando-os como os seres mais bem sucedidos do planeta. Considerando a importância médica e ecológica dos grupos propostos, o projeto propõem um inventário na Reserva Biológica do Jarú. Floresta Nacional do Jamari e Parque Estadual de Guajará-Mirim no estado de Rondônia. Responsável: Alexandre de Almeida e Silva. Instituição de Fomento: CNPq.

**Diversidade gênica de Plasmodium em hospedeiros humanos, símios e vetores Anopheles da Amazônia Ocidental Brasileira.** No continente Americano a malária de primatas não humanos é representada por apenas duas espécies – *Plasmodium brasilianum* e *P. simium*, parasitas estes semelhantes aos da malária humana, *P. malariae* e *P. vivax*, respectivamente. Essa semelhança reforça a hipótese de que esses pares homólogos representam a mesma espécie, o que tornaria os símios reservatório da malária humana. Nossos resultados, obtidos recentemente na região de Rondônia, demonstraram uma prevalência de *P. brasilianum* em símios capturados próximo à habitação humana, bem como casos de *P. malariae* humano e infecções de *P. falciparum* em símios, mostrando evidências adicionais da possível inter-relação entre a malária humana e de símios. Dessa forma, estes animais poderiam constituir um reservatório natural da malária humana. No entanto, a participação desses símios na dinâmica de transmissão da malária humana ainda não é esclarecida. A disponibilidade de amostras de *P. malariae/P. brasilianum* e de *P. falciparum* dos dois hospedeiros (símios e humanos) obtidas recentemente, além do estudo de vetores que poderiam participar dessa transmissão no Estado de Rondônia, torna possível a investigação da correlação genética entre as cepas de *Plasmodium* desses hospedeiros. De modo que, essa correlação poderá esclarecer o real papel dos símios como reservatório zoonótico na região Amazônica. Dessa forma, o objetivo desse estudo é analisar a diversidade gênica de *Plasmodium* em hospedeiros humanos e símios e determinar os vetores que estariam participando desta nossa nova dinâmica de transmissão da malária da região de Rondônia. Responsável: Luiz Hildebrando Pereira da Silva.

**Métodos moleculares e clássicos aplicados à identificação e caracterização de novos compostos químicos ativos contra malária e leishmaniose a partir da biodiversidade.** Plantas, como organismos que co-evoluem com insetos e outros microorganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que as mesmas são produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico. Muitas plantas que são utilizadas na medicina popular para diversos fins estão sendo avaliadas quanto a um potencial efeito inseticida/larvicida contra importantes vetores de doenças como a malária e a dengue. Responsável: Rodrigo G. Stábeli. Instituição de Fomento: CNPq.

**Banco de Venenos e Secreções da Amazônia Sul Ocidental e Oriental: ampliação e caracterização molecular para a geração do conhecimento bioprospectivo à biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de novos fármacos.** A malária é um grande problema de saúde pública no mundo, e a grande maioria dos casos concentra-se nas regiões tropicais. O principal vetor dessa doença no Brasil é o mosquito *Anopheles darlingi*. Devido à importância do controle vetorial pesquisas tem sido realizadas buscando o desenvolvimento de inseticidas naturais que sejam menos prejudiciais ao meio ambiente e mais eficientes. Estudos sobre o potencial inseticida de substâncias secretadas por anfíbios e serpentes ainda são incipientes e podem vir a contribuir para o controle vetorial integrado. Responsável: Rodrigo G. Stábeli. Instituição de

Fomento: CNPq.

**Prospecção, caracterização e prototipagem de agentes de ação antimalárica e inseticida a partir da biodiversidade da Amazônia Legal.** O presente projeto tem o objetivo identificar, isolar e produzir, em nível experimental, protótipos de novas drogas derivadas de moléculas de origem vegetal, animal e microbiana oriundas da biodiversidade brasileira, ou especificamente sintetizadas, ativas contra alvos moleculares de vias metabólicas particulares de parasitas da malária humana e de seus respectivo vetor inseto, o *Anopheles darlingi*. Responsável: Rodrigo G. Stábili. Instituição de Fomento: CNPq.

**Estimativas de taxas de infecção natural por *Trypanosoma spp.* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em barbeiros capturados em zona de fronteira Brasil-Bolívia e áreas Rurais e Urbanas de Rondônia.** O estudo tem por objetivo estimar a taxa de infecção de espécimes de triatomíneos por *Trypanosoma cruzi*, relacionando a presença dos barbeiros infectados e não infectados com os refúgios e habitats onde ocorrem, georreferenciando as palmeiras e localidades de estudo. Além disso, a proposta visa o treinamento de agentes de saúde, por meio de atividades e ações em Educação em Saúde, de forma que o conhecimento seja levado às áreas rurais, para coleta de triatomíneos ou formas semelhantes e enviada a Fiocruz - Rondônia. Os insetos enviados à Fiocruz Rondônia serão identificados em nível de espécie; caso estejam vivos, poderão ter suas fezes processadas em análise molecular. Ao final de cada semestre, serão produzidas cartilhas contendo com os resultados da pesquisa, com fotos dos possíveis vetores e informações sobre manejo integrado de vetores, que serão distribuídas para a população via agentes de saúde das localidades. Responsável: Genimar Rebouças Julião. Instituição de Fomento: MS-SVS, Chamamento de Estudos e Pesquisas Aplicadas, Edital No. 20/2013.

**O uso de ferramentas na análise epidemiológica da dengue e no controle de *Aedes aegypti*, no município de Porto Velho, Rondônia.** Os objetivos da proposta são: (i) avaliar o perfil epidemiológico da dengue nos principais centros urbanos do estado de Rondônia; (ii) analisar a distribuição espacial de casos do vírus Dengue registrados e confirmados no município de Porto Velho; e (iii) comparar dois softwares livres para a contagem automática de ovos de *Ae. aegypti* obtidos em ovitrampas instaladas em bairros com alta incidência de dengue na área urbana de Porto Velho. Além disso, após a padronização, calibração, e validação dos resultados obtidos com a contagem automática de ovos em palhetas, pretende-se ministrar Cursos de Atualização visando o emprego do software de contagem automática, noções básicas de sistema de informação geográfica e geoprocessamento de dados, tendo como público alvo, técnicos e agentes de saúde responsáveis pelo Monitoramento e Controle de *Ae. aegypti*, tanto na esfera municipal como estadual. Responsável: Genimar Rebouças Julião. Instituição de Fomento: PPSUS – FAPERO/SESAU/MS/CNPq, Chamada N°001/2013.

**Distribuição vertical de potenciais vetores envolvidos na transmissão da malária símia e de arboviroses em três localidades no estado de Rondônia, Amazônia Ocidental, Brasil.** As mudanças ambientais produzidas pelo homem podem afetar a distribuição espacial e temporal dos vetores de doenças, com adaptação de patógenos e vetores a novos ciclos de transmissão e manutenção das doenças. No estado de Rondônia foram observadas taxas de infecção relativamente altas (10,3%) por *Plasmodium brasilianum* em várias espécies silvestres de símios; infecções naturais por *P. falciparum* também foram registradas. Concomitantemente, existe uma grande diversidade de vírus transmitidos por artrópodes na região Amazônica, mas pouco se sabe quanto os aspectos epidemiológicos das arboviroses, com exceção da febre do DENV. Algumas arboviroses e a malária símia compartilham a questão do conhecimento limitado acerca da identidade dos vetores que participam do ciclo de transmissão dos patógenos. Dessa forma, os objetivos da proposta são comparar a frequência de espécies de *Anophelinae* e *Culicinae* (*Culicidae*) e *Ceratopogonidae* (i) em copa e solo de floresta, verificando espécies com comportamento acrodendrofilico; (ii) em função do tipo de armadilha empregada (CDC e BG-Sentinel®); estimar as taxas de infecção natural por (iii) *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*/*P. brasilianum* e *P. simium* em espécies do gênero *Anopheles*; (iv) vírus Dengue, Oropouche, da Febre Amarela, Mayaro, Cacipacoré e da febre do Nilo Ocidental em dípteros silvestres com potencial para transmissão de arbovírus. Responsável: Luiz Hildebrando Pereira da Silva. Instituição de Fomento: CNPq.

**Filariose em Rondonia: Estudo integrado de epidemiologia e vigilância da mansonelose em populações ribeirinhas de fronteira com a Bolívia.** O Objetivo principal desse projeto é estudar a ocorrência de filariose no estado de Rondônia. Tendo em vista que a Bolívia é um país endêmico para *Mansonella ozzardi* e existe no estado de Rondônia vários municípios que estão em áreas de fronteira com a Bolívia, faz necessário uma investigação nas comunidades ribeirinhas para observarmos se a filariose já é encontrado no estado de Rondônia. Será realizado inquérito epidemiológico e estimado a prevalência da mansonelose na população ribeirinha, como também será mapeado áreas de risco de ocorrência de mansonelose na região de Fronteira com a Bolívia. O estudo será desenvolvido em comunidades ribeirinhas dos municípios de São Francisco do Guaporé, Guajará-Mirim e Costa Marques, Rondônia, Brasil. Para as estimativas de prevalências serão utilizados como diagnóstico a gota espessa de sangue e a PCR. Responsável: Jansen F. Medeiros. Instituição de Fomento: PPSUS – FAPERO/SESAU/MS/CNPq, Chamada N°001/2013.

## 4. PUBLICAÇÕES

### 4.1. Artigos Publicados em Revistas Indexadas

- 01 Marinotti, O.; Cerqueira, G.C.; de Almeida, L.G.P.; Ferro, M.I.T.; Loreto, E.L.D.; S. Zaha, A.; Teixeira, S.M.R.; Wespiser, A.R.; Almeida e Silva, A.; Schlindwein, A.D.; Pacheco, A.C.L.A.; Silva, A.L.D.C.; Graveley, B.R.; Walenz, B.P.; De Araujo Lima, B.; Ribeiro, C.A.G.; Nunes-silva, C.G.; De Carvalho, C.R.; De Almeida Soares, C.M.; De Menezes, C.B.A.; Matioli, C.; Caffrey, D.; Araujo, D.A.M.; De Oliveira, D.M.; Golenbock, D.; et al.; The Genome of *Anopheles darlingi*, the main neotropical malaria vector. *Nucleic Acids Research*, 41: 7387-7400, 2013.
- 02 Trindade, F.T.T.; Stabeli, R.G.; Almeida, A.P.; Facundo, V.A.; Silva, A.A.E. *Copaifera multijuga* ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23: 464-470, 2013.
- 03 Araújo, M.S.; Messias, M.R.; Figueiró, M.R.; Gil, L.H.S.; Probst, C.M.; Vidal, M.N.; Katsuragawa, T.H.; Krieger, M.A.; Pereira-da-Silva, L.H.; Ozaki, L.S. Natural *Plasmodium* infection in monkeys in the state of Rondonia (Brazilian Western Amazon). *Malaria Journal*, 12: 180, 2013.
- 04 Chagas, A.C.; Calvo, E.; Rios-Velásquez, C.M.; Pessoa, F.A.C.; Medeiros, J.F.; Ribeiro, J.M.C. A deep insight into the sialotranscriptome of the mosquito, *Psorophora albipes*. *BMC Genomics*, 14: 875-875, 2013.
- 05 Teles, C.B.G.; Freitas, R.A.; Oliveira, A.F.J.; Ogawa, G.M.; Cavalcante, E.; Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Camargo, L.M.A. Description of a new phlebotomine species (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) and new records of sand flies from the State of Acre, northern Brazil. *Zootaxa*, 3609: 85-90, 2013.
- 06 Teles, C.B.G.; Basano, S.A.; Zagonel-Oliveira, M.; Campos, J.J.; Oliveira, A.F.J.; Freitas, R.A.; Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Barral, A.; Camargo, L.M.A. Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis and phlebotomine sandfly population, in the municipality of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46: 60-66, 2013.
- 07 Matias, R.R.; Medeiros, J.F.; Costa, C.A. Diagnóstico da *Mansonella ozzardi* (Nematoda, Onchocercidae) em Simuliidae (Diptera) pela Reação da Cadeia da Polimerase -PCR. *Revista Científica Literatus*, 9: 53-55, 2013.
- 08 Katsuragawa, T.H.; Gil, L.H.S.; Lima, A.A.; Freita G.E.M.; Santos, T.M.; Nascimento, F.M.T.; Santos Júnior, A.P.J.; Silva, J.M.; Rodrigues, A.F.; Tada, M.S.; Fontes, C.J. F.; Pereira, S.L.H. Selective Intermittent Preventive Treatment of Vivax Malaria: Reduction of Malaria Incidence in an Open Cohort Study in Brazilian Amazon. *Malaria Research and Treatment*, 1-11, 2013.
- 09 Medeiros, J.H.; Costa, C.A.; Lima, A.M.; Pessoa, F.A.C. *Mansonella ozzardi* (Nematoda: Onchocercidae) in the riverine population of the Tefé River, State of Amazonia, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 47: 113-115, 2014.
- 10 Ramos, W.R.; Medeiros, J.F.; Julião, G.R.; Rios-Velásquez, C.M.; Marialva, E.F.; Pessoa, F.A.C.; Luz, S.L.B. Anthropogenic effects on sand fly (Diptera: Psychodidae) abundance and diversity in an Amazonian rural settlement, Brazil. *Acta Tropica*, 139: p. 44-52, 2014.
- 11 Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Camargo, L.M.A. Mansonelliasis: A Brazilian neglected disease. *Revista de Patologia Tropical*, 43: 1-6, 2014.
- 12 Basano, S.D.A.; Fontes, G.; Medeiros, J.F.; Camargo, J.S.D.A.A.; Vera, L.J.S.; Araújo, M.P.P.; Parente, M.S.P.; Ferreira, R.D.G.M.; Crispim, P.D.T.B.; Camargo, L.M.A. Sustained Clearance of *Mansonella ozzardi* Infection after Treatment with Ivermectin in the Brazilian Amazon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90: 1170-1175, 2014.
- 13 Medeiros, J.F.; Rodrigues, M.S.; Katsuragawa, T.H.; Costa, C.A.; Pessoa, F.A.C. *Mansonella ozzardi* in the municipality of Tefé, Amazonas, Brazil, 60 years after the first report: an epidemiologic study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 109: 480-483, 2014.
- 14 Gonçalves, A.Q.; Abellana, R.; Pereira-da-Silva, H.D.; Santos, I.; Serra, P.T.; Julião, G.R.; Orlandi, P.P.; Ascaso, C. Comparison of the performance of two spontaneous sedimentation techniques for the diagnosis of human intestinal parasites in the absence of a gold standard. *Acta Tropica*, 131: 63-70, 2014.
- 15 Angêla, A.F.; Salgueiro, P.; Gil, L.H.S.; Vicente, J.L.; Pinto, J.; Ribolla, P.E.M. Seasonal genetic partitioning in the neotropical malaria vector, *Anopheles darlingi*. *Malaria Journal*, 13: 1-10, 2014.
- 16 Gimenez, G.S.; Neto, A.C.; Kayano, A.M.; Silva, R.S.; Trindade, F.T.T.; Silva, A.A.E.; Marcussi, S.; Silva, S.L.; Fernandes, C.F.C.; Zuliani, J.P.; Azevedo, C.L.; Soares, A.M.; Stabeli, R.G. Biochemical and functional characterization of *Parawixia bistriata* Spider venom with potential proteolytic and larvicidal activities. *BioMed Research International*, 2014: 1-13, 2014.
- 17 Batista, E.P.A.; Costa, E.F.M.; Silva, A.A. *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) displays increased attractiveness to infected individuals with *Plasmodium vivax* gametocytes. *Parasites & Vectors*, 7: 251, 2014.
- 18 Souza, M.S.; Silva, A.A.E.; Teixaira, C.A.D.; Costa, J.N.M. Parasitismo na população da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), pelo parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* *Betrem* (Hymenoptera: Bethyilidae). *EntomoBrasilis*, 7: 178-182, 2014.
- 19 Trindade, F.T.T.; Soares, A.A.; Moura, A.A.; Soares, A.M.; Stabeli, R.G.; Calderon, L.A.; Silva, A.A.E. Insecticidal activity of *Leptodactylus knudseni* and *Phyllomedusa vaillantii* crude skin secretions against the mosquitoes *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti*. *The Journal of Venomous Animals and Toxins*

Including Tropical Diseases, 20: 28, 2014.

#### 4.2. Artigos Publicados /Aprovados 2015

- 01 Julião, G.R., Venticinque, E.M.; Fernandes, G.W.; Price, P.W. Unexpected high diversity of galling insects in the Amazonian upper canopy: the savanna out there. Plos One, v. 9, p. e114986, 2015.
- 02 Teles, C.B.G.; Medeiros, J.F.; Santo, A.P.A.; Freitas, L.A.R.; Katsuragawa, T.H.; Cantanhêde, L.M.; Ferreira, R.G.M.; Camargo, L.M.A. Caracterização de Leishmaniose Tegumentar Americana em área de fronteira, Assis Brasil, Acre, Brasil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 2015.
- 03 Medeiros, J.F.; Almeida, T.A.P.; Silva, L.B.T.; Rubio, J.M.; Crainey, J.L.; Pessoa, F.A.C.; Luz, S.L.B. A field trial of a PCR-based *Mansonella ozzardi* diagnosis assay detects high-levels of submicroscopic *M. ozzardi* infections in both venous blood samples and FTA(R) card dried blood spots. Parasites & Vectors, 2015.
- 04 Gil, L.H.S.; Katsuragawa, T.H.; Lima, A.A.; Tada, M.S.; Ozaki, L.S.; Julião, G.R. Cesspools as breeding sites for *Aedes aegypti* in urban areas of Northern Brazil. Revista Pan-Amazônica de Saúde, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, 2015.

#### 4.3. Artigos em Preparação

- 01 Julião, G.R., Pessoa F.A.C., Novo S.P.C., Desmoulière S.J.M., Luz, S.L.B. Mosquito and sand fly fauna associated with indoor, outdoor and forest edge habitats along two segments of the BR-319 highway, Amazonas, Brazil. EcoHealth, 2015.

#### 4.4. Livros

#### 4.5. Capítulo de Livro

- 01 Julião, G.R.; Almada, E.D.; Fernandes, G.W. Galling Insects in the Pantanal Wetland and Amazonian Rainforest. In: Fernandes GW; Santos JC. (Org.). Neotropical Insect Galls. 1ed.; 2014, v. , p. 377-403.

#### 4.6. Resumos Estendido

#### 4.7. Resumos

- 01 Araújo, M.S.; Soares, W.P.; Costa, J.D.N.; Gil, L.H.S.; Katsuragawa, T.H.; Krieger, M.A.; Ozaki, L.S.; Pereira-da-Silva, L.H. Infecção Natural do Principal vetor da Malária Humana, *Anopheles darlingi*, em áreas endêmicas de Porto Velho – Rondônia. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e II Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis/SC.
- 02 Gonçalves, A.Q.; Abellana, R.; Pereira-Da-Silva, H.D.; Julião, G.R.; Orlandi, P.P.; Ascaso, C. "Comparação do desempenho (validade e confiabilidade) de duas técnicas de sedimentação para o diagnóstico de parasitas intestinais na ausência de um padrão ouro". In: XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Campo Grande, MS, 2013.
- 03 Gonçalves, A.Q.; Ascaso, C.; Santos, I.; Serra, P.T.; Julião, G.R.; Orlandi, P.P. "Elevada incidência de infecção espúria por *Calodium hepaticum* (Capillaria hepatica) na Amazônia Brasileira e emergência desta área como prioritária para pesquisa de casos de doença". In: XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Campo Grande, MS, 2013.
- 04 Teles, C.B.G.; Santos, A.A.; Cunha, P.N.A.; Araújo, E.A.C.; Freitas, R.A.; Ogawa, G.M.; Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Cáceres, O.; Camargo, L.M.A. Characterization of phlebotomine infection with the *Leishmania braziliensis* complex using multiplex pcr in a Brazilian high endemic area. Assis Brasil, state of Acre, western Amazon, Brazil. In: Fifth World Congress on Leishmaniasis - Worldleish 5, 2013, Porto de Galinhos/PE.
- 05 Pessoa, F.A.C.; Ramos, W.R.; Julião, G.R.; Luz, S.L.B.; Medeiros, J.F. Effects of the deforestation and human population density on the diversity and abundance of Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a rural settlement on Brazilian Amazon. In: Fifth World Congress on Leishmaniasis 5, 2013, Porto de Galinhos/PE.
- 06 Almeida, T.A.P.; Silva, L.B.T.; Pessoa, F.A.C.; Luz, S.L.B.; Medeiros, J.F. Strategy for diagnosis of *Mansonella* spp. In middle Solimões, Amazonas state, Brazil. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis/SC.
- 07 Medeiros, J.F.; Costa, C.A.; Rodrigues, M.S.; Pessoa, F.A.C. Perfil epidemiológico da *Mansonella ozzardi* na região de Tefé, Amazonas, Brasil. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis/SC.
- 08 Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Martins, M. Dados preliminares da ocorrência de *Mansonella ozzardi* em comunidades do município de Codajás, Amazonas, Brasil. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis/SC.



- 09 Junior, A.M.P.; Pessoa, F.A.C.; Medeiros, J.F. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no município de Tefé, Amazonas, Brasil. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis/SC.
- 10 Farias, E.S.; Junior, A.M.P.; Medeiros, J.F.; Bauer, M.L.F.; Pessoa, F.A.C. Fauna de Culicídeos (Diptera: Ceratopogonidae) em terra firme e várzea no município de Tefé-AM, Brasil. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis/SC.
- 11 Silva, C.L.A.; Kobs, T.R.L.; Gomes, B.; Rodrigues, M.S.; Silva, A.A.E.; Gil, L.H.S. Species richness and diversity of sand-flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the influence area of the hydroelectric power plant of Jirau in Porto Velho, Rondonia, Brazil. In: Fifth World Congress on Leishmaniasis, 2013, Porto de Galinhas/PE.
- 12 Silva, G.N.S.; Trindade, F.T.T.; Santos, F.; Gosmann, G.; Silva, A.A.E.; Gnoatto, S.C.B. Discovery of new chemical from natural source effectiveness against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti*: larval/afticidal activity of the betulinic and ursolic acids. In: Drug Discovery and Therapy World Congress, 2013, Boston.
- 13 Silva, A.A.E.; Trindade, F.T.T.; Neto, A.C.; Stábeli, R.G. Atividade larvicida dos extratos etanólicos das folhas de *Eclipta alba*, *Casearia silvestris*, *Serjania erecta*, *Zeyheria Montana* sobre larvas de *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae). In: XIII Reunião Anual de Malária, 2013, Manaus/AM.
- 14 Pimentel, I.F.; Silva, A.A.E.; Gil, L.H.S.; Ferreira, R.G.M. Infecção natural em vetores da malária nas áreas de influência da usina hidrelétrica de Jirau em Rondônia. In: XXIII Congresso Nacional de Parasitologia, 2013, Florianópolis.
- 15 Armando, E.J.; Silva, A.A.E.; Paixão, K.S.; Rodrigues, M.S.; Eiras, A.E. Avaliação de dois atraentes sintéticos de odor humano na captura de *Anopheles darlingi* em semi-campo. In: XXIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013, Manaus/AM.
- 16 Gimenez, G.S.; Neto, A.C.; Kayano, A.M.; Caldeira, C.A.S.; Moura, A.A.; Sousa, R.D.; Oliveira, G.A.; Silva, R.S.; Trindade, F.T.T.; Silva, A.A.E.; Marcussi, S.; Saltoratto, A.L.F.; Belebony, R.O.; Calderon, L.A.; Soares, A.M.; Stabeli, R.G. Biochemical and toxicological characterization of *Parawixia bistriata* spider venom. In: XI Congress of the Pan American Section of the International Society on Toxinology, 2013, Guarujá.
- 17 Pereira, A.V.C.; Vieira, D.S.; Botelho, L.F.; Araújo, M.S.; Messias, M.R.; Santos, A.O.; Ozaki, L.S.; Pereira, S.L.H.; Salcedo, J.M.V. Identificação do vírus da Hepatite B em amostras de primatas não humanos no estado de Rondônia. In: Hepatologia do Milênio, 2013, Salvador/BA.
- 18 Costa, G.S.; Gadelha, S. S.; Silva, A.A.E. Diversidade de Ichneumonidae (Insecta: Hymenoptera) da Estação Ecológica do Cuniã, Porto Velho, Rondonia. In: II Simpósio CENBAM e PPBio Amazônia Ocidental, 2013, Manaus/AM.
- 19 Marin, M.S.C.; Almeida, L.A.; Ribeiro, A.R.; Pinotti, H.; Lopes, P.S.; Oliveira, J.; Mendonça, V.J.; Gil, L. H. S.; Pereira-Da-Silva, L. H.; Silva, C. L. A.; Rosa, J. A. Estudo da infecção de *Rhodnius montenegrensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) provenientes de Rondônia, Brasil.. In: III Congresso Farmacêutico da Unesp, 2013, Araraquara. Congresso Farmacêutico. Araraquara: Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada., 2013. v. 34. p. 14-180.
- 20 Aprigio, C.J.L.; Silva, C.L.A.; Gil, L.H.S. Estudo de Flebotomíneos em uma área com registro de casos de Leishmaniose Tegumentar Americana no Município de Candeias do Jamari, Rondônia. In: XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2013, Campo Grande - MS. Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Brasília: Revista da Sociedade de Medicina Tropical, 2013. v. 4. p. 143-186.
- 21 Gil, L.H.S.; Mello, P.P.A.C.; Soares, W.P.; Silva, C.L.A.; Simplicio, M.F.; Katsuragawa, T.H.; Pereira-Da-Silva, L.H. Levantamento de Triatomíneos em Palmeiras de Áreas Peridomiciliar, em cinco Municípios do Estado de Rondônia. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis - SC. XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013.
- 22 Marin, M. C. S. ; Ribeiro, A. R. ; Paula, M. C. C. ; Almeida, L. A. ; Mendonca, V. J. ; Gil, L. H. S. ; Pereira-Da-Silva, L. H. ; Silva, C. L. A. ; Rosa, J. A. . Caracterização morfológica de cinco cepas de *Trypanosoma cruzi* isoladas de *Rhodnius montenegrensis* provenientes de Rondônia. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis - SC. XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia e III Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2013.
- 23 Teles, C.B.G.; Santo, A.P.A.; Freitas, R.A.; Oliveira, A.F.J.; Ogawa, G.M.; Medeiros, J.F.; Pessoa, F.A.C.; Camargo, L.M.A. Infecção natural por *Leishmania (Viannia) braziliensis* e *L. (V.) guyanensis* em flebotomíneos de Assis Brasil, Acre, tríplice fronteira do Brasil, Peru e Bolívia. In Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014, Rio Branco/AC.
- 24 Junior, A.M.P.; Marialva, E.F.; Rodrigues, M.S.; Pessoa, F.A.C.; Medeiros, J.F. Studies on fauna of *Phlebotomines* sand flies (Diptera: Psychodidae) at terra firme and várzea environments in Tefé municipality, Amazonas, states, Brazil. In: ISOPS VIII International Symposium of Phlebotomine Sandflies, 2014, Porto Iguazu.
- 25 Junior, A.M.P.; Teles, C.B.G.; Santo, A.P.A.; Pessoa, F.A.C.; Medeiros, J.F. Natural infection of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania Ross* (Kinetoplastida: Trypanomatidae) in Terra Firme and Várzea environments in Tefé municipality, Amazonas State, Brazil. In: ISOPS VIII

- International Symposium of Phlebotomine Sandflies, 2014, Puerto Iguazú.
- 26 Andriolo, A.; Batista, E.P.A.; SILVA, A.A. E. Fauna de mosquitos (Diptera: Culicidae) da Reserva Ecológica do Cuniã, Porto Velho, Rondonia. In: II Simpósio CENBAM e PPBio Amazônia Ocidental, 2014, Manaus. II Simpósio CENBAM e PPBio Amazônia Ocidental, 2014.
- 27 Trindade, F.T.T.; Soares, A.M.; Stabeli, R.G.; Silva, A.A.E. Análise do potencial larvicida de venenos brutos de serpentes contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). In: 50 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014, Rio Branco/AC.
- 28 Zanin, C.R.F.; Silva, A.A.E. Colonização de *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) em laboratório. In: 50 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014, Rio Branco/AC.

## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientações Concluídas

- 01 Antonio Marques Pereira Júnior. Mestrado. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de terra firme e de várzea no município de Tefé, Amazonas, Brasil. 2014. Programa de Pós-Graduação em Entomologia - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Orientador: Jansen Fernandes de Medeiros.
- 02 Juciane Conceição da Silva. Mestrado. Caracterização de hemócitos em *Psilopelmia rorotaense* e *P. trombetense* (Diptera, Simuliidae). 2014. Programa de Pós-Graduação em Entomologia - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Orientador: Jansen Fernandes de Medeiros.

### 5.2. Orientações em Andamento

- 01 Frances Tatiane T. Trindade. Doutorado. Avaliação da administração oral de RNAi para o bloqueio da infecção de *Plasmodium vivax* em *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae). Doutorado. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental. Universidade de Rondônia. Orientador: Alexandre de Almeida e Silva.
- 02 Carla Ribeiro Figueiredo Zanin. Mestrado. Colonização de *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) em laboratório. 2013. Mestrado. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental. Universidade de Rondônia. Orientador: Alexandre de Almeida e Silva.
- 03 Thais Costa dos Santos. Mestrado. Estudo da atratividade de *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) e sua relação com suor de indivíduos infectados com *Plasmodium vivax*. 2013. Mestrado. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental. Universidade de Rondônia. Orientador: Alexandre de Almeida e Silva.
- 04 Anne Caroline Alves Meireles. Iniciação Científica. Avaliação da taxa de infecção por *Plasmodium* em potenciais vetores da malária simiana pela técnica de Semi Nested PCR Multiplex. 2013. Graduação em Ciências Biológicas na Faculdade Inter-America de Porto Velho/UNIRON. PIBIC-CNPq. Orientadora: Maisa da Silva Araújo.
- 05 Glaucilene da Silva Costa. Colonização de *Anopheles darlingi* em laboratório. 2014. Mestrado. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental. Universidade de Rondônia. Orientador: Alexandre de Almeida e Silva.
- 06 Daiane Silva Barbosa. Avaliação do potencial de iscas tóxicas açucaradas *Attractive toxic baits (ATSB)* em mosquitos *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Mestrado. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental. Universidade de Rondônia. Orientador: Alexandre de Almeida e Silva.
- 07 Moisés Santos de Souza. Ecologia Química do parasitóide *Cephalomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae). Doutorado. Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal ( Bionorte) - Orientador: Alexandre de Almeida e Silva.
- 08 Lucas Rosendo da Silva. Monitoramento de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) através de armadilhas ovitrampas instaladas em nove bairros do município de Porto Velho, estado de Rondônia. Início: 2014. Iniciação Científica. Graduando em Ciências Biológicas – União das Escolas Superiores de Rondônia, PIBIC-CNPq. Orientadora: Genimar Rebouças Julião.
- 09 Fábio Resadore. Fauna de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) e infecção natural da área rural do município de Porto Velho, Rondônia, Brasil. Início: 2014 - Iniciação Científica. Graduação em Ciências Biológicas. Faculdades São Lucas. PIBIC-CNPq. Orientador: Jansen Fernandes Medeiros.

### 5.3. Cursos Ministrados

- 01 JULIÃO, G.R. Tópicos em Ecologia de Insetos: Ênfase em Biotecnologia e Saúde Humana. 2013. atividade de extensão oferecida pelo Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio), Núcleo Regional Coari-UFAM, de 17 a 19 de janeiro de 2013 (carga horária de 12 horas).
- 02 JULIÃO, G.R. Tópicos em Ecologia de Insetos: Ênfase em Biotecnologia e Saúde Humana. 2013. (Seminário) 4a Jornada Acadêmica Biologia e Gestão Ambiental Uniron, Porto Velho, RO.
- 03 JULIÃO, G.R. Curso de Atualização: Tópicos Seleccionados em Entomologia Médica. 2013, Laboratório de Entomologia, Fiocruz Rondônia (Coordenação – Organização).

### 6. LICENÇAS E AUTORIZAÇÕES OBTIDAS

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade: Autorização para atividades com finalidade científica nº 42353-1, 42339-1 e 26805-2.

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa em Medicina Tropical – CEPEM: Autorizações com finalidade científica nº 26302113.4.0000.0011, nº 2285812.3.0000.0011 e nº 18870313.3.0000.0011.

# LABORATÓRIO DE EPIDEMIOLOGIA GENÉTICA



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1 Pesquisadores Principais

Dr. Ricardo de Godoi Mattos Ferreira  
<http://lattes.cnpq.br/0175278011664600>

### 1.2 Equipe

Lilian Motta Cantanhêde, Doutoranda Instituto Oswaldo Cruz  
Iasmin Ferreira Pimentel, Mestranda PGBIOEXP  
Ana Paula de Azevedo Santos, Iniciação Científica Fiocruz  
Kátia Paula Felipin, Iniciação Científica Fiocruz  
Hélen Paula de Jesus, Apoio Técnico  
Claudino Limeira de Souza, Apoio Técnico  
Marlon Grégori Flores, Colaborador

### 1.3. Colaborações Nacionais

Henrique Krieger, Universidade de São Paulo / Inagemp  
Luís Marcelo aranha Camargo, Instituto de Ciências Biomédicas 5 ICB-5 USP  
Sérgio de Almeida Basano, Centro de Medicina Tropical de Rondônia CEMETRON  
Elisa Cupolillo, Instituto Oswaldo Cruz  
Renato Porrozzi, Instituto Oswaldo Cruz  
Roberto Nicolete, Fiocruz Rondônia  
Carolina Bioni Garcia Teles, Fiocruz Rondônia

## 2. INFRAESTRUTURA

O laboratório tem infraestrutura compartilhada com o Laboratório de Engenharia de Anticorpos e conta com equipamentos para realização de experimentos de biologia molecular como: extração de ácidos nucleicos, PCR convencional e eletroforese vertical e horizontal de ácidos nucleicos. Equipamentos: Termociclador, cubas de eletroforese, fontes para eletroforese, geladeira, freezers, banho-maria, banho-seco, estufa, bancadas e outros, além de fluxo contínuo de materiais de consumo para realização dos experimentos.

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de Pesquisa

Base Genéticas da susceptibilidade de patologias infecciosas e parasitárias

## 3.2. Projetos

### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

**Avaliação do comportamento clínico da leishmaniose tegumentar relacionada às espécies de *Leishmania* spp. em Rondônia.** Descrição: O objetivo do Projeto é a avaliação dos aspectos clínicos da Leishmaniose Tegumentar Americana em pacientes atendidos no serviço de referência em doenças tropicais de Rondônia (CEMETRON), as possíveis relações destes com as espécies de *Leishmania* reconhecidas na referida região, bem como o possível envolvimento do Leishmaniavírus (LRV) nas diversas formas de manifestação da doença. Responsável: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira. Equipe: Elisa Cupolillo; Gustavo Romero; Juan Villa-Lobos Salcedo; Roberto Nicolete; Lilian Motta Cantanhêde; Marcos Massayuki Ito; Cipriano Ferreira da Silva Júnior. Instituição de Fomento: DECIT-MS/CNPq - Pesquisa em Doenças Negligenciadas.

**Avaliação da expressão gênica comparativa de genes de *Leishmania* relacionados à virulência e a resistência a drogas em lesões de pacientes com leishmaniose tegumentar, atendidos no Centro de Medicina Tropical de Rondônia.** Descrição: A seguinte proposta tem como objetivo avaliar o perfil de expressão gênica de genes de *Leishmania* relacionados à resistência aos fármacos utilizados no tratamento e à virulência do parasita em amostras clínicas de pacientes atendidos no CEMETRON e diagnosticados com Leishmaniose Tegumentar. Foram selecionados diversos genes descritos a literatura como genes envolvidos no processo de resistência e/ou de virulência do parasita. Utilizando técnicas de quantificação da expressão gênica buscamos verificar a taxa de cura clínica observada dos pacientes incluídos na amostra e se esta apresenta relação com a expressão gênica observada nas análises e avaliar a relação entre resultados de expressão gênica obtidos em isolados com os resultados obtidos em amostras de RNA extraídos de lesão. Responsável: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira. Equipe: Lilian Motta Cantanhêde, Iasmin Ferreira Pimentel, Kátia Paula Felipin, Cipriano Ferreira da Silva Júnior, Marcos Massayuki Ito. Instituição de Fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Convênio UNIVERSAL MCTI/CNPq Nº 14/2013.

**Instituto Nacional de Genética Médica Populacional – INAGEMP. Responsável: Roberto Giugliani.** Área de conhecimento: Genética Médica e Genética de Populações. Instituição de Fomento: CNPq. Descrição: averiguar a eficiência de algoritmos de análise de dados de microarranjos de DNA e o possível viés causado pela degradação dos ácidos nucleicos das amostras biológicas armazenadas por longos períodos. Foi modelado e criado banco de dados MySQL para armazenamento dos dados de microarranjos; foi criado um script para inserção dos dados e os mesmos foram inseridos no servidor da Fiocruz Rondônia, com mais de 38 milhões de registros de genótipo. Equipe: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira, Paulo Henrique Alves, Márlon Grégori Flores Custódio.

### b. Projetos Aprovados

**Avaliação de fatores relevantes para a vigilância em saúde e atenção integral à leishmaniose tegumentar em Rondônia.** Descrição: A equipe do projeto se propõe a realizar atividades em três eixos principais: 1) Análise situacional sobre a prevenção, atenção e vigilância à leishmaniose em Rondônia, tanto baseado em dados dos sistemas oficiais quanto com verificação in loco nas regiões de saúde do estado; 2) Avaliação dos fatores relacionados à evolução do quadro clínico dos pacientes, em especial no que diz respeito ao desenvolvimento da forma mucosa e relação entre espécie/variabilidade do parasita; 3) Monitoramento de possível resistência ao Glucantime em pacientes com falha terapêutica. Responsável: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira. Equipe: Lilian Motta Cantanhêde, Carolina Bioni Garcia Teles, Iasmin Ferreira Pimentel, Ana Paula de Azevedo Santos, Kátia Paula Felipin. Instituição de Fomento: Programa de Pesquisa para o SUS – PPSUS, FAPERO/SESAU/MS/CNPq, Edital 001/2013.

### c. Projetos de Pesquisa Encerrados

**Avaliação de possível viés nas análises genéticas utilizando dados de microarranjos de DNA obtidos de arranjos com call rate menor que 93%.** Responsável: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira. Descrição: O estudo tem como objetivo principal avaliar se a baixa qualidade das amostras de Monte Negro e Hospedaria dos Imigrantes que foram fornecidas pelos experimentos de microarranjos do Laboratório de Epidemiologia Genética da USP armazenadas por um longo período, podem trazer viés às análises de frequência, associação e ligação. Equipe: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira / Paulo Henrique Alves / Márlon Grégori Flores Custódio. Instituição de Fomento: CNPq para bolsa do aluno, em custos diretos de reagentes, realizado utilizando dados do Laboratório de Epidemiologia Genética do Departamento de Parasitologia do ICB/USP.

## 4. PUBLICAÇÕES

### 4.1 Artigos Publicados em Revistas Indexadas

- 01 1. SANDRA, C. A. ; ESTEVAM, G. K. ; PENATI, M. ; SOARES, L. A. ; FERREIRA, R. G. ; ORLANDI, P. P. ; NAJLA, B. M. . Detection of rotavirus in children with acute gastroenteritis in Porto Velho, Rondonia, Brazil. *Archives of Virology*, v. 705, p. 01-02, 2013.
- 02 2. JAKOBI, H.R. ; BARBOSA-BRANCO, A. ; BUENO, L. F. ; FERREIRA, R. G. M. ; CAMARGO, L. M. A. . Incapacidade para o trabalho: análise dos benefícios auxílio-doença concedidos no estado de Rondônia. *Ciência e Saúde Coletiva (Impresso)*, v. 18, p. 3157-3168, 2013.
- 03 3. COSTA, JOANA DARC NEVES ; ZANCHI, F. B. ; RODRIGUES, F. ; HONDA, E. ; KATSURAGAWA, T. H. ; PEREIRA, D. ; TABORDA, R. ; TADA, M. S. ; FERREIRA, R. G. M. ; PEREIRA-DA-SILVA, L. H. . Cross-reactive anti-PfCLAG9 antibodies in the sera of asymptomatic parasite carriers of *Plasmodium vivax*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso)*, v. 108, p. 98-105, 2013.

### 4.2. Resumos

- 01 1. PIMENTEL, I. F.; ALMEIDA-E-SILVA, A.; GIL, L. H. S.; FERREIRA, R. G. M. Infecção natural em vetores da malária nas áreas de influência da usina hidrelétrica de JIRAU em Rondônia. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2013, Florianópolis. XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2013.
- 02 2. CANTANHÊDE, L. M.; SILVA JUNIOR, C. F.; ITO, M. M.; Custódio, M. G. F.; Alves, P. H.; PESCARINI, J.; GARRIDO, L. M.; KRIEGER, H.; FERREIRA, R. G. M. Leishmaniaspecies identification and Leishmanivirus detection on clinical samples from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis patients in Rondônia, Western Amazonian region. In: WorldLeish5, 2013, Porto de Galinhas. 5th World Congress on Leishmaniasis, 2013.

## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientações Concluídas

- 01 Lilian Motta Cantanhêde. Mestrado. Título: Detecção de Leishmania RNA Vírus em amostras de pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana atendidos no Centro de Referência em Medicina Tropical de Rondônia – CEMETRON. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.

### 5.2. Orientações em Andamento

- 01 Iasmin Ferreira Pimentel. Mestrado. Título: Infecção natural por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum* em *Anopheles* spp capturados nas áreas de influência direta da Usina Hidrelétrica de Jirau em Rondônia. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.
- 02 Kátia Paula Felipin. Iniciação Científica Fiocruz. Título: Identificação de espécies de *Leishmania* de pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana atendidos no Centro de Medicina Tropical de Rondônia – CEMETRON. Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.
- 03 Ana Paula de Azevedo Santos. Iniciação Tecnológica Fiocruz. Título: Padronização de ensaios imunoenzimáticos para detecção de Leishmanivirus em formas promastigotas de *Leishmania*. Orientador: Ricardo de Godoi Mattos Ferreira.

# LABORATÓRIO DE IMUNOLOGIA CELULAR APLICADA À SAÚDE



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1 Pesquisadores Principais

Dr<sup>a</sup>. Juliana Pavan Zuliani (Chefe do Laboratório)  
<http://lattes.cnpq.br/9093880214338747>

Dr. Quintino Moura Dias Junior  
<http://lattes.cnpq.br/3352640545833230>

### 1.2 Equipe

Sulamita s. Setubal, Doutorando-PGBIOEXP  
Adriana Pontes, Doutorando-PGBIOEXP  
Adriana Ema Nogueira, Doutorando-PGBIOEXP  
Weverson Luciano Pires, Doutorando-BIONORTE  
Leda Fabiélen Teixeira, Mestrando-PGBIOEXP  
Letícia H. Carvalho, Mestrando-PGBIOEXP  
Neriane Monteiro Nery, Técnico Fiocruz Rondônia  
Jéssica Felix, Bolsista PIBIC-Fiocruz  
Jessica Caroline Vaz dos Santos, Bolsista PIBIC-Fiocruz

### 1.3. Colaborações Nacionais

Rodrigo G. Stábeli, Fiocruz Rondônia/UNIR  
Leonardo A. Calderon, Fiocruz Rondônia/UNIR  
Andreimar M. Soares, Fiocruz Rondônia  
Najla B. Matos, Fiocruz Rondônia  
Fernando Zanchi, Fiocruz Rondônia  
Carla Celedônio Fernandes, Fiocruz Rondônia  
Gustavo Menezes, UFMG/ MG  
Stella Zamuner, Uninove/SP  
Consuelo Latorre Fortes Dias, Fundação Ezequiel Dias/MG  
Valdir Facundo, UNIR/RO.  
Paulo S. Bernarde, UFAC, Cru. do Sul/AC  
Auro Nomizo, FCFRP-USP/SP  
Eduardo R. Honda, CEPEM/RO  
Paulo Flávio Silveira, Instituto Butantan/SP  
Karla Luna, Universidade Estadual da Paraíba/Paraíba  
Izaltina S. Jardim, Universidade Estadual de Santa Cruz-Bahia  
Fabio H. Kwasniewski, Universidade Estadual de Londrina/PR

## 2. INFRAESTRUTURA

O Laboratório de Imunologia Celular Aplicada à Saúde trabalha em estreita colaboração com o Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde e o Laboratório de Química de Produtos Naturais, ambos da Universidade Federal de Rondônia e, com o Centro de Pesquisas em Medicina Tropical – CEPEM, além de outras parcerias FUNED, UEPB, UESC e UEL. Os projetos de pesquisa do laboratório trabalham com modelos *in vivo* (camundongos da linhagem Swiss) e *in vitro* (linhagens de células de cultura, além de células do sangue periférico). A infra-estruturado laboratório conta com: Agitador orbital, Balança analítica e semi-analítica, Cabines de fluxo laminar, Centrífugas para tubos de 50 e 15 mL Eppendorf, Equipamento de eletroforese e transferência BioRad, Espectrofotômetros para leitura em placas e cubetas BioTek, lavadora de placas BioTek, FACScan analisador de contagem citométrica Becton Dickson, Freezer, geladeiras, Incubadora de CO Revco e Sanyo, pletismógrafos, Microcentrífuga Fanen, Microscópios (1 óptico e 1 invertido), analgesímetro.

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de Pesquisa

Estudo clínico e epidemiológico dos acidentes ofídicos admitidos no Centro de Medicina Tropical em Porto Velho/Rondônia. Imunopatologia e Imunofarmacologia das toxinas de serpentes. Efeito de venenos e toxinas animais na funcionalidade de leucócitos humanos ou animais; Estudo comparativo sobre o efeito local e sistêmico de venenos de *Bothrops* e *Crotalus*. Imunofarmacologia e Neurofarmacologia de produtos naturais de interesse biotecnológico, com ênfase na prospecção de biomoléculas extraídas de plantas e animais do bioma amazônico (Anuros e Serpentes) com atividade anti-inflamatória, analgésica, ansiolítica e antidepressiva.

### 3.2. Projetos

#### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

2

**Papel dos leucócitos na resposta inflamatória induzida por venenos e toxinas isoladas.** Dentro deste contexto estão inseridos os projetos: Papel dos neutrófilos na resposta inflamatória induzida por FLA2s isoladas do veneno da serpente *Bothropsatrox*. Responsável: Juliana P. Zuliani. Área de conhecimento: Imunologia celular. Instituição de Fomento: CNPq - Bolsa de Produtividade em Pesquisa. Papel dos neutrófilos na resposta inflamatória induzida por L-amino ácido oxidase (LAAO) isolada do veneno da serpente *Calloselasma rhodostoma*. Responsável: Juliana P. Zuliani. Área de conhecimento: Imunologia celular. Instituição de Fomento: CNPq – Edital Universal 2013. Papel dos neutrófilos na resposta inflamatória induzida pelo veneno da serpente *Bothropsbilineata*. Descrição: Os relatos clínicos mostram que o envenenamento botrópico leva à formação de exsudado purulento no local da picada além de edema e mionecrose. Flores et al. (1993) relataram a migração de neutrófilos induzida pela administração de venenos de *B. erythromelas* e *B. alternatus* na cavidade peritoneal de ratos. Lomonte *et al.* (1994) demonstraram a presença de leucócitos no tecido muscular de camundongos após a injeção do veneno de *B. asper*. Acosta de Pérez et al., (1996) mostraram um infiltrado leucocitário, composto principalmente de neutrófilos, em músculo gastrocnêmio de ratos, após a injeção do veneno de *B. jararaca* da Argentina e Farsky et al. (1997) caracterizaram o componente leucocitário da reação inflamatória induzida pelo veneno de *B. jararaca* em ratos. Zamuner et al. (2005) mostraram o recrutamento de neutrófilos induzido pela administração do veneno de *B. asper* na cavidade peritoneal de camundongos. Ademais, Teixeira *et al.* (2003) demonstraram o papel relevante dos neutrófilos no processo de regeneração muscular após a ação tóxica do veneno de *B. asper*. No entanto, os mecanismos envolvidos na ativação dos neutrófilos, por esses venenos e por componentes isolados desses venenos, responsáveis por tais efeitos, não estão estabelecidos. Além disso, apesar da literatura apresentar estudos dedicados à compreensão dos efeitos locais dos venenos ofídicos, particularmente do gênero *Bothrops*, o real papel dos neutrófilos nessas ações não foi avaliado. Equipe: Sulamita Setubal, Adriana Silva Pontes, Jessica Felix, Neriane Monteiro, Leonardo A. Calderon, Andreimar M. Soares, Rodrigo Stabeli.

**Papel da B<sub>2</sub>U, uma lectina isolada do veneno da serpente *Bothrops jararacussu*, sob a resposta imunológica mediada por linfócitos T.** Responsável: Juliana P. Zuliani. Área de conhecimento: Imunologia celular. A proposta tem por objetivo mapear as subpopulações de linfócitos T responsáveis pela liberação de IL-10, uma importante citocina que regula negativamente a ativação celular. Esses dados são representativos, promissores e merecem estudos adicionais, no sentido de esclarecer os mecanismos desse efeito, bem como auxiliar na busca de novos modelos de fármacos que possuem atividades que poderiam ser melhores estudados e exploradas para futuras aplicações clínicas. Equipe: Sulamita Setubal, Onassis Boeri, Anderson M. Kayano, Leonardo A. Calderon, Andreimar M. Soares, Rodrigo Stabeli.

**Avaliação do potencial antinociceptivo, anti-inflamatório, ansiolítico e antidepressivo de toxinas de animais da ordem Anura, família *Bufonidae*.** Responsável: Quintino Moura Dias Júnior. Área: Imuno e Neurofarmacologia; Bioprospecção. A proposta objetiva prospectar moléculas com potencial antinociceptivo, anti-inflamatório, ansiolítico e antidepressivo de substâncias extraídas de anuros bufonídeos das espécies *Rhaebo guttatus*, *Rhinela marina*, *Rhinelaschneideri* e *Rhinelafernandazae* em modelos experimentais *in vivo*.



As moléculas com as atividades esperadas serão farmacologicamente caracterizadas e posteriormente testadas em modelos de doenças crônico-degenerativas não-infecciosas e doenças inflamatórias de interesse em saúde pública. Equipe: Jessica Caroline Vaz dos Santos, Leonardo A. Calderon.

## b. Projetos Aprovados

**Papel dos neutrófilos na resposta inflamatória induzida por FLA s isoladas do veneno da serpente Bothropsatrox.** Responsável: Juliana P. Zuliani. Área de conhecimento: Imunologia celular. Instituição de Fomento: CNPq - Bolsa de Produtividade em Pesquisa.

**Papel dos neutrófilos na resposta inflamatória induzida por L-amino ácido oxidase (LAAO) isolada do veneno da serpente Calloselasmahodostoma.** Responsável: Juliana P. Zuliani. Área de conhecimento: Imunologia celular. Instituição de Fomento: CNPq – Edital Universal 2013.

## c. Projetos de Pesquisa Encerrados

**Papel da BjcUL, uma lectina isolada do veneno da serpente Bothropsjararacussu, sob a resposta imunológica mediada por linfócitos T. Parte 2 – Fenotipagem das subpopulações de linfócitos T.** Responsável: Juliana P. Zuliani. Área de conhecimento: Imunologia celular. Instituição de Fomento: CNPq – Edital Universal 2011.

## 4. PUBLICAÇÕES

### 4.1 Artigos Publicados em Revistas Indexadas

- 01 RUEDA A Q ;ZULIANI, J. P. ; RODRIGUÉZ GONZALÉZ, I.I. ; ARANTES, E C ;SETUBAL, S. S.; CALDERON, L.A. ; STÁBELI, R. G. ; SOARES, A. M. . *Action of two phospholipases A2 purified from Bothropsalternatus snake venom on macrophages.* Biochemistry (New York) **JCR** , v. 78, p. 194-203, 2013.
- 02 SETÚBAL, S. S. ; PONTES, A. S. ; Néry, N.M. ; BASTOS, J. S. F. ; Castro, B.C. ; PIRES, W. L. ;Zaqueo, K.D. ; CALDERON, L.A. ; Stabeli, R.G. ; SOARES, A. M.; ZULIANI, J. P. . *EFFECT OF Bothropsbilineata SNAKE VENOM ON NEUTROPHIL FUNCTION.* Toxicon (Oxford) , v. x, p. in-press, 2013.
- 03 MARCUSSI, S. ;STABELI, R. G. ; SANTOS-FILHO, N. A. ; MENALDO, D. L. ; PEREIRA, L. L. S. ; ZULIANI, J. P. ;Calderon, L.A. ; SILVA, S. L. ; ANTUNES, L. M. G.; SOARES, A. M. . *Genotoxic effect of Bothrops snake venoms and isolated toxins on human lymphocyte DNA.* Toxicon (Oxford) **JCR** , v. 65, p. 9, 2013.
- 04 COUTINHO-NETO, A. ;CALDEIRA, C. A. S. ; SOUZA, G. H. M. F. ; Zaqueo, KD ; KAYANO, A. M. ; SIMOES-SILVA, R. ; Zuliani, Juliana P. ; SOARES, A. M. ; STABELI, R. G.; CALDERON, L. A. . *ESI-MS/MS Identification of a Bradykinin-Potentiating Peptide from Amazon Bothropsatrox Snake Venom Using a Hybrid Qq-oaTOF Mass Spectrometer.* Toxins, v. 5, p. 335-327-335, 2013.
- 05 DELAIX-ZAQUEO, K. ; Serrano, R.O.P. ;Zaqueo, K.D. ; Hungria, D.B. ; STÁBELI, R. G. ; ZULIANI, J. P. ;SOARES, A. M. ; CALDERON, L.A. ; CALDERON, L.A. . *Amphibia, Anura, Microhylidae, Gastrophryinae, Elachistocleis Bicolor Guérin Méneville, 1838: Distribution Extension and Geographic Distribution Map.* Global Journal of Medical Research, v. XIII, p. 15-18, 2013.
- 06 RUEDA, ARISTIDES QUINTERO ; RODRÍGUEZ, ISELA GONZÁLEZ ; ARANTES, ELIANE C. ; SETÚBAL, SULAMITA S. ; CALDERON, LEONARDO DE A. ; Zuliani, Juliana P. ; STÁBELI, RODRIGO G. ; SOARES, ANDREIMAR M. . *Biochemical Characterization, Actionon Macrophages, and Superoxide Anion Production of Four Basic Phospholipases A2 from Panamanian Bothropsasper Snake Venom.* BioMedResearchInternational, v. 2013, p. 1-9, 2013.
- 07 FAIS, RAFAEL SOBRANO ; REIS, GLAUCIA MELO ; DIAS, QUINTINO MOURA ; ROSSANEIS, ANA CAROLINA ; SILVEIRA, JOÃO WALTER S. ; PRADO, WILIAM ALVES . *Amitriptyline prolongs the antihyperalgesic effect of 2Hz electroacupuncture in mononeuropathic rats.* Acupuncture and Related Therapies, v. 1, p. 20-26, 2013.
- 08 DIAS, Q.M. ; ROSSANEIS, A.C. ; PRADO, W.A. . *An improved experimental model for periph eral neuropathy in rats.* Brazilian Journal of Medical and Biological Research on line, v. 46, p. 253-256, 2013.
- 09 ZUCCHI, FABÍOLA C.R. ; TSANACLIS, ANA MARIA C. ; MOURA-DIAS, QUINTINO ; SILVA, CÉLIO L. ; PELEGRINI-DA-SILVA, ADRIANA ; NEDER, LUCIANO ; TAKAYANAGUI, OSVALDO M. . *Modulationofangiogenicfactor VEGF by DNA-hsp65 vaccination in a murine CNS tuberculosismodel.* Tuberculosis (Edinburgh) **JCR** , v. pii, p. 1, 2013.

#### 4.2. Artigos Submetidos e aceitos

- 01 Pontes, A. S. ;SETUBAL, S. S. ;Xavier, C. V. ;Silva-Lacouth, F. ;KAYANO, A.M. ;PIRES, W. L. ;Néry, N.M. ; CASTRO, O. B. ; SILVA, S. D. ; Calderon, L.A.; STÁBELI, RODRIGO G. ; SOARES, A. M. ; **ZULIANI, J. P.** . *Effect of l-amino acid oxidase from Calloselasma rhodostoma snake venom on human neutrophils*. *Toxicon (Oxford)* <sup>JCR</sup>, v. 80, p. 27-37, 2014.
- 02 Furtado, J.L. ; OLIVEIRA, G. A. ; Pontes, A. S. ; SETUBAL, S. S. ; Xavier, C. V. ; Silva-Lacouth, F. ; Lima, B.F. ; Zaqueo, K.D. ; KAYANO, A.M. ; Calderon, L.A.; STÁBELI, R. G. ; SOARES, A. M. ; **Zuliani, Juliana Pavan** . *Activation of J77A.1 Macrophages by Three Phospholipases A2 Isolated from Bothrops atrox Snake Venom*. *BioMedResearchInternational*, v. 2014, p. 1-13, 2014.
- 03 IZIDORO, L. F. ; SOBRINHO, J. ; MENDES, M. ; COSTA, T. ; GRABNER, A. ; BELEBONI, R. ; RODRIGUES, V. M. ; SILVA, S. L. ; ZANCHI, F. B. ; **Zuliani, Juliana Pavan** ; FERNANDES, C. C. ; Calderon, L.A.; STABELI, R. G. ; SOARES, A. M. . *Snake Venom L-Amino Acid Oxidases: Trends in Pharmacology and Biochemistry*. *BioMedResearchInternational*, v. 2014, p. 1-19, 2014.
- 04 CALDERON, L. A. ; SOBRINHO, J. ; Zaqueo, K.D. ; MOURA, A. A. ; GRABNER, A. ; MAZZI, M. ; MARCUSSI, S. ; NOMIZO, A. ; FERNANDES, C. C. ; **Zuliani, Juliana Pavan** ; CARVALHO, B. M. A. ; SILVA, S. L. ; STÁBELI, RODRIGO G. ; SOARES, A. M.. *Antitumoral Activity of Snake Venom Proteins: New Trends in Cancer Therapy*. *BioMedResearchInternational*, v. 2014, p. 1-19, 2014.
- 05 MOURA, A. A. ; KAYANO, A.M. ; OLIVEIRA, G. A. ; SETUBAL, S. S. ; RIBEIRO, J. ; BARROS, N. B. ; NICOLETE, R. ; ANDRADE, L. M. ; FULY, A. L. ; NOMIZO, A. ; SILVA, S. L. ; FERNANDES, C. C. ; **Zuliani, Juliana Pavan** ; STABELI, R. G. ; SOARES, A. M.. *Purification and Biochemical Characterization of Three Myotoxins from Bothrops mattogrossensis Snake Venom with Toxicity against Leishmania and Tumor Cells*. *BioMedResearchInternational*, v. 2014, p. 1-13, 2014.

#### 4.3. Artigos em Preparação

- 01 GUIMARAES, C. ; ANDRILAO-ESCARSO, S. ; MOREIRA-DILL, L. S. ; CARVALHO, B. M. A. ; MARCHI-SALVADOR, D. ; SANTOS-FILHO, N. ; FERNANDES, C. ; FONTES, M. R. M. ; GIGLIO, J. R. ; BARRAVIERA, B. ; **Zuliani, Juliana P.** ; FERNANDES, C. C. ; Calderon, L. A. ; STABELI, R. G.. *Alkylation of histidine residues of Bothrops jararacussu venom proteins and isolated phospholipases A2: A biotechnological tool to improve the production of antibodies*. *BioMedResearchInternational*, 2014.
- 02 ROSSANEIS, AC; GENARO, K; **DIAS, QM**; GUETHE, LM; FAIS; RS; DEL BEL, EA; PRADO, WA. *Descending mechanisms activated by the anterior pretectal nucleus initiate but do not maintain neuropathic pain in rats*. *J. Pain*, 2014.
- 03 **Dias, QM**; Rossaneis, JW; Wiliam A. Prado *The antiallodynic effect of intrathecal baclofen, but not muscimol, depends on the integrity of systems that descend through the dorsolateral funiculus in mononeuropathic rats*. *BMRI: Neuroscience*.

#### 4.4. Resumos

- 01 CASTRO, O. B. ; KAYANO, A.M. ; XAVIER, C. V. ; SETUBAL, S. S. ; PONTES, A. S. ; Néry, N.M. ; PIRES, W. L. ; Calderon, L.A. ; SOARES, A. M. ; FERNANDES, C. C. ; STABELI, R. G. ; **ZULIANI, J. P.** . *Molecular Mechanisms Involved in the Activation of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells Induced by BijuA a lectin Isolated From Bothrops jararacussu venom.. In: 11th World Congress on Inflammation, 2013, Natal. Livro de Resumos do 11th World Congress on Inflammation, 2013.*
- 02 SETUBAL, S. S. ; PONTES, A. S. ; Néry, N.M. ; BASTOS, J. S. F. ; CASTRO, O. B. ; PIRES, W. L. ; Zaqueo, K.D. ; Calderon, L.A.; STÁBELI, RODRIGO G. ; SOARES, ANDREIMAR M. ; **ZULIANI, J. P.** . *Effect of Bothrops bilineata snake venom on neutrophil function.. In: XI Congress of the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Livro de Resumos do XI Congress of the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013.*
- 03 PONTES, A. S. ; SETUBAL, S. S. ; Xavier, C. V. ; Silva-Lacouth, F. ; KAYANO, A.M. ; PIRES, W. L. ; Néry, N.M. ; CASTRO, O. B. ; SILVA, S. D. ; Calderon, L.A.; STÁBELI, RODRIGO G. ; SOARES, A. M. ; **ZULIANI, J. P.** . *Effect of L-amino acid oxidase from Calloselasma rhodostoma snake venom on human neutrophils.. In: XI Congress of the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Livro de Resumos do XI Congress of the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013.*
- 04 SOUZA, R. D. ; KAYANO, A.M. ; MONTEIRO, M. C. ; FULY, A. L. ; MARCUSSI, S. ; **ZULIANI, J. P.** ; CALDERON, L.A. ; SOARES, ANDREIMAR M. ; STÁBELI, RODRIGO G. . *Toxicological characterization of social wasp polybia occidentalis (vespidae) venom.. In: XI Congress of the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Livro de resumos do XI Congress of the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013.*

- 05 MOURA, A.A. ; KAYANO, A.M. ; SETUBAL, S. S. ; OLIVEIRA, G. A. ; RIBEIRO, J. G. ; BARROS, N. B. ; MOURA, L. A. ; FULY, A. L. ; NICOLETE, R. ; NOMIZO, A. ; **ZULIANI, J. P.** ; STÁBELI, RODRIGO G. ; SOARES, ANDREIMAR M. ; CALDERON, L.A.. Purification and biochemical characterization of the phospholipases A2 from *Bothrops mattogrossensis* snake venom with cytotoxicity on tumor cells lines and promastigotes forms of *Leishmania*.. In: XI Congress on the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Livro de Resumos do XI Congress on the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013.
- 06 OLIVEIRA, G. A. ; KAYANO, A. M. ; Zaqueo, K.D. ; SETUBAL, S. S. ; SOBRINHO, J. ; SIMOES-SILVA, R. ; MOREIRA-DILL, L. S. ; Coutinho Neto, A. ; CALDEIRA, C. A. S. ; **ZULIANI, J. P.** ; CALDERON, L.A. ; SOARES, A. M. ; STÁBELI, RODRIGO G. . Isolation and biochemical characterization of myotoxic phospholipase A2-like from *Bothrops atrox* snake venom.. In: XI Congress on the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Livro de resumos do XI Congress on the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013.
- 07 ZAQUEO, K.D. ; KAYANO, A.M. ; OLIVEIRA, G. A. ; SIMOES-SILVA, R. ; SOBRINHO, J. ; MOREIRA-DILL, L. S. ; DOMINGOS, T. F. S. ; FULY, A. L. ; SILVA, S. L. ; **ZULIANI, J. P.** ; CALDERON, L.A. ; SOARES, ANDREIMAR M. ; STÁBELI, RODRIGO G. . Isolation and Partial characterization of a new serine protease from *Bothrops brazili* snake venom.. In: XI Congress on the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013, Guarujá. Livro de Resumos do XI Congress on the Pan-American Section of the International Society on Toxinology and XII Congress of the Brazilian Society of Toxinology, 2013.

## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientações Concluídas

- 01 **Onassis Boeri, Mestrado**, Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia – “ESTUDO DOS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA INIBIÇÃO DA PROLIFERAÇÃO DE MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANOS INDUZIDA PELA LECTINA BjcUL ISOLADA DO VENENO DE *Bothrops jararacussu*”. Área do Conhecimento: Biologia Experimental. Área de Concentração: Biologia e Biotecnologia: bases celulares e moleculares das interações parasita hospedeiro. Linha de pesquisa: Imunopatologia e Imunofarmacologia das toxinas de serpentes. Projeto de vínculo: Mecanismos moleculares envolvidos na proliferação de linfócitos T in vitro induzidos por lectinas isoladas de venenos de serpentes. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.

### 5.2. Orientações em Andamento

- 01 **Adriana Ema, Doutorado**, Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia – “SCREENING FARMACOLÓGICOS DA *Palicourea marcovii* A. St. Hill”. Área do Conhecimento: Biologia Experimental. Área de Concentração: Biologia e Biotecnologia: bases celulares e moleculares das interações parasita hospedeiro. Linha de pesquisa: Imunopatologia e Imunofarmacologia das toxinas de serpentes. Projeto de vínculo: SCREENING FARMACOLÓGICOS DA *Palicourea marcovii* A. St. Hill. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.
- 02 **Sulamita da Silva Setubal, Doutorado**, Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia – “Papel dos neutrófilos na resposta inflamatória induzida por FLA2s isoladas do veneno da serpente *Bothrops atrox*”. Área do Conhecimento: Biologia Experimental. Área de Concentração: Biologia e Biotecnologia: bases celulares e moleculares das interações parasita hospedeiro. Linha de pesquisa: Imunopatologia e Imunofarmacologia das toxinas de serpentes. Projeto de vínculo: Papel dos leucócitos na resposta inflamatória induzida por proteínas e peptídeos provenientes de secreções de anuros e de venenos de serpentes. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.
- 03 **Adriana Silva Pontes, Doutorado**, Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia – “Papel dos neutrófilos na resposta inflamatória induzida pela LAAO isolada do veneno da serpente *Calloselasma rhodostoma*”. Área do Conhecimento: Biologia Experimental. Área de Concentração: Biologia e Biotecnologia: bases celulares e moleculares das interações parasita hospedeiro. Linha de pesquisa: Imunopatologia e Imunofarmacologia das toxinas de serpentes. Projeto de vínculo: Papel dos leucócitos na resposta inflamatória induzida por proteínas e peptídeos provenientes de secreções de anuros e de venenos de serpentes.
- 04 **Leda Fabiélén Teixeira, Mestrado**, Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia - EFEITO LOCAL E SISTÊMICO DE BdpTX-I, UMA NOVA FOSFOLIPASE A2 Lys-49 ISOLADA DO VENENO DA SERPENTE *Bothrops diporus*. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.

- 05 **Letícia H. Carvalho, Mestrado**, Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia - “ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS LOCAIS E SISTÊMICOS DOS VENENOS DAS SERPENTES *Crotalus durissus collilineatus*, *Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus cascavella* EM CAMUDONGOS”. Orientador: Juliana Pavan Zuliani.
- 06 **Jessica Caroline Vaz dos Santos, Iniciação Científica (PIBIC-Fiocruz)** - Avaliação do efeito antinociceptivo e anti-inflamatório do veneno bruto de *Rhaeboguttatus* em camundogosswiss. Orientador: Quintino Moura Dias Júnior.

## 6. LICENÇAS E AUTORIZAÇÕES OBTIDAS

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético: Autorização de acesso e de remessa de amostra de componente do patrimônio genético nº 010627/2011-1.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade: Autorização para atividades com finalidade científica nº 27131-2.

# LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1 Pesquisador Principal

Dr<sup>a</sup>. Najla Benevides Matos (Pesquisador-Chefe)  
<http://lattes.cnpq.br/4963470094090382>

### 1.2 Equipe

Núcia Cristiane da Silva Lima, Fiocruz Rondônia, Técnico  
Rosimar Pires Esquerdo, Fiocruz Rondônia, Técnico  
Luis Antonio Silva, Fiocruz Rondônia, Mestrando  
Renata Santos Rodrigues, Fiocruz Rondônia, Mestrando  
José Ribeiro de Oliveira, Fiocruz Rondônia, Mestrando  
Aldilene Vieira de Albuquerque, Fiocruz Rondônia, Iniciação Científica  
Maria de Fátima Rodrigues Aguiar, Fiocruz Rondônia, Iniciação Científica  
Flávia Serrano Batista, CEPEM, Biomédica  
Iris Regina Santos Marques, CEPEM, Estagiária  
Tatiane Ferreira Batista, CEPEM, Estagiária  
Sabrina Carvalho da Silva, CEPEM, Estagiária

### 1.3. Colaborações Nacionais

Tania A. Tardelli Gomes do Amaral, Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP  
Sueli Sampaio, Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP  
Patricia Orlandi, Fiocruz, Centro de Pesquisa Leonidas e Maria Deane - AM  
Ivone Gabbay Mendes, Laboratório de Virologia do Instituto Evandro Chagas  
Márcia Benedita de Oliveira Silva, Instituto de Ciências Biológicas e Naturais, Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFMT/MG

## 2. INFRAESTRUTURA

O laboratório de Microbiologia situado no Centro de pesquisa em Medicina Tropical está distribuído em 2 salas aqui denominadas de sala 1 e sala 2. A sala 1 com 8m<sup>2</sup> possui 1 pia e 3 bancadas para a identificação clássica dos enterobactérias e bactérias responsáveis pelas infecções respiratórias infantis. A sala 2 com 6m<sup>2</sup> é utilizada para manipulação molecular. Os equipamentos de médio porte distribuídos atualmente neste laboratório são: 2 estufas de cultura bacteriana, 1 estufa de CO<sub>2</sub>, 1 Incubador tipo Shaker, 2 termocicladores, 1 aparelho eletroforese de campo pulsado, 2 microscópios, 1 secador de gel, 1 centrífuga, 1 fluxos laminar e 1 banho Maria. Na parte externa do laboratório (corredor) estão localizados 3 geladeiras e 2 freezers.

## 2. INFRAESTRUTURA

O laboratório de Microbiologia situado no Centro de pesquisa em Medicina Tropical está distribuído em 2 salas aqui denominadas de sala 1 e sala 2. A sala 1 com 8m<sup>2</sup> possui 1 pia e 3 bancadas para a identificação clássica dos enterobatógenos e bactérias responsáveis pelas infecções respiratórias infantis. A sala 2 com 6m<sup>2</sup> é utilizada para manipulação molecular. Os equipamentos de médio porte distribuídos atualmente neste laboratório são: 2 estufas de cultura bacteriana, 1 estufa de CO<sub>2</sub>, 1 Incubador tipo Shaker, 2 termocicladores, 1 aparelho eletroforese de campo pulsado, 2 microscópios, 1 secador de gel, 1 centrífuga, 1 fluxos laminar e 1 banho Maria. Na parte externa do laboratório (corredor) estão localizados 3 geladeiras e 2 freezer.

## 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Linhas de Pesquisa

Caracterização, tratamento e controle de agentes bacterianos e virais responsáveis pela alta mortalidade infantil na Amazônia.

### 3.2. Projetos

#### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

**Caracterização etiológica e molecular dos vírus associados à gastroenterite em crianças de 0 a 6 anos de idade na região de Porto Velho-RO.** Em Rondônia, são poucos os dados sobre a identificação dos agentes etiológicos envolvidos nas infecções diarreicas infantis. A proposta desta pesquisa foi determinar a prevalência dos enteropatógenos, caracterizando os genótipos circulantes. As coletas foram realizadas no principal centro médico infantil do Estado de Rondônia. Participaram deste estudo crianças de 0-6 anos de idade de ambos os sexos, com quadro de gastroenterite aguda, admitidas durante os meses de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2012. As 591 amostras fecais coletadas foram submetidas ao teste imunoenzimático para detecção qualitativa dos enterovírus. O total de 102 (17,20 %) amostras apresentaram resultado positivo para Rotavírus do grupo A (RVA). Norovirus, adenovírus e astrovirus foram identificados em 7.8%, 2,0% e 0,8% respectivamente. A infecção por norovírus foi detectada em todas as idades sendo mais prevalente em crianças de 7 a 18 meses de idade ( $p= 0,0138$ ). Todas as crianças apresentaram sintomas típicos associados com a infecção viral. Fezes com sangue foi observada em 13.0% (6/46) das crianças infectadas pelo norovírus, e em 16.6% das crianças infectadas com adenovírus. A maior incidência de norovírus foi detectado nos períodos de fevereiro, março e abril de 2010, com 52.2% dos casos positivos. Co-infecções envolvendo vírus e bactérias enteropatógenas foram detectados em 44.4% das crianças com diarreia viral. A infecção nosocomial foi demonstrada em 28,5% dos casos. Este estudo poderá contribuir para uma melhor compreensão do papel dos vírus nas infecções gastrointestinais na população pediátrica de Porto Velho-RO e poderá ser importante no planejamento estratégico de controle da doença na região. Equipe: Maria Sandra da Costa Amaral, Greyc Kelli Estevan, Marilena Aparecida Cruz, Ivony Gabbay, Patricia Orlandi, Núcia Cristiane da Silva Lima e Najla Benevides Matos. Instituição de Fomento: CNPq, IPEPATRO.

**Caracterização do Padrão de resistência aos antibióticos das cepas de *Klebsiella sp.* isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho-RO.** Descrição: Bactérias do gênero *Klebsiella* podem transferir plasmídios contendo o gene da  $\beta$  lactamase de espectro estendido (ESBL) para diferentes gêneros e espécies de bactérias. Essas enzimas são capazes de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> geração e monobactâmicos. Neste estudo identificamos através de testes fenotípicos e moleculares a incidência de ESBL em isolados de *Klebsiella sp.* provenientes de material fecal de crianças com gastroenterites agudas. Para analisar os perfis de resistência utilizamos a técnica de aproximação e teste de dupla difusão em disco como preconizado pelo CLSI. No período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2012, foram identificadas 112 cepas de *Klebsiella sp.* Das 75 cepas analisadas nos testes fenotípicos, 18 cepas foram suspeitas para a produção de ESBL, verificada pelo aumento ( $\geq 5$ mm) no diâmetro do halo de inibição dos discos e 04 positivas apresentaram a zona fantasma entre pelo menos uma cefalosporina e amoxicilina+ácido clavulânico. Pela técnica de PCR, 05 cepas amplificaram para o gene ESBL do tipo TEM, 04 para o tipo CTX-M e 38 para o tipo SHV. O estudo de bactérias produtoras de ESBL é de suma importância, já que o aumento de sua incidência reduz a opção de tratamento. Responsável: Najla Benevides Matos. Equipe: Aldilene Vieira de Albuquerque e Renata Santos Rodrigues. Instituição de Fomento: IPEPATRO.

**Perfil Epidemiológico das Infecções Agudas Respiratórias em População Infantil na Região Metropolitana de Porto Velho–RO.** As infecções respiratórias agudas (IRAs) são causas importantes de morbidade e mortalidade infantil em todo o mundo, apresentando um maior impacto em países em desenvolvimento. São poucos os estudos sobre a prevalência das doenças respiratórias principalmente na região norte onde está localizado o estado de Rondônia. O objetivo deste estudo é Caracterizar o perfil epidemiológico das infecções respiratórias agudas em população infantil na região metropolitana de Porto Velho-RO. Em termo de saúde pública, este trabalho permitirá estimar a frequência dos agentes virais e/ou bacterianos nas infecções respiratórias agudas infantis em crianças atendidas e/ou hospitalizadas no Hospital Infantil Cosme e Damião. Dentro do estudo epidemiológico e molecular poderá ser analisado as razões emergência e re-emergência dos patógenos identificados, determinando suas alterações ambientais. Serão avaliadas as infecções bacterianas a distribuição dos sorotipos, o nível e o perfil de resistência das bactérias responsáveis pelas infecções respiratórias isoladas e o perfil de resistência aos antibióticos. Em relação aos resultados esperados das infecções agudas respiratórias causadas por vírus, este estudo poderá demonstrar através de um perfil epidemiológico e molecular os agentes virais responsáveis por tais infecções correlacionando com sua análise filogenética. Esses resultados poderão auxiliar o desenvolvimento de medidas profiláticas e terapêuticas antivirais adequadas para os grupos acometidos pelas infecções caracterizadas. Responsável: Najla Benevides Matos. Equipe: Deusilene Souza Vieira e Núcia Cristiane da Silva Amaral. Instituição de Fomento: CNPq.

**Formação de biofilme em cepas de *Escherichia coli enteropatogênica* (EPEC) típica e atípica isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho/RO**”A formação de biofilme é uma estratégia de sobrevivência microbiana importante, pois permite que as bactérias sobrevivam em ambientes hostis e possam colonizar novos nichos por vários mecanismos de dispersão. Alguns estudos têm demonstrado que *Escherichia coli enteropatogênica* (EPEC) tem a habilidade de formar biofilme in vitro, porém o mecanismo desta ação não está totalmente estabelecido. O objetivo deste estudo foi detectar a capacidade de formação de biofilme em cepas de *Escherichia coli enteropatogênica* típicas e atípicas isoladas de crianças com gastroenterite aguda em Porto Velho/RO. Utilizamos neste estudo um total de 117 isolados de EPEC, destes 15 pertenciam a EPEC típica e 102 EPEC atípica. Tais amostras foram isoladas de crianças de 0 a 6 anos de idade, admitidas no Hospital Infantil Cosme e Damião (HICD) com quadro clínico de gastroenterite aguda, no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2012. Para a formação do biofilme as amostras foram submetidas ao teste de detecção de biofilme por espectrofotometria. Após coloração com cristal violeta, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 640nm. Através dos valores de absorbância obtidos, as amostras foram classificadas em: não aderente (NA), fracamente aderente (FCA) ou fortemente aderente (FMA). Dos 117 isolados testados 16 (13,68%) foram considerados fortemente aderentes, 15 (12,82%) fracamente aderente e 86 (73,5%) não aderentes. Nos isolados de EPEC típica, 2 (13,3%) foram considerados FMA, 2 (13,3%) FCA e 11 (73,4%) NA. Quanto aos isolados de EPEC atípica, 14 (13,7%) foram FMA, 13 (12,7%) FCA e 75 (73,5%) NA. Estes resultados demonstram a existência de cepas formadoras de biofilme nas amostras estudadas, fato que é preocupante, uma vez que esta propriedade é um fator de virulência adicional e um mecanismo de resistência natural da bactéria, tornando-as mais resistentes a ação de agentes químicos e físicos. Além disso, a matriz exopolissacarídica formada no biofilme impede a penetração de agentes antimicrobianos, dificultando a destruição das bactérias e estando relacionada a persistência bacteriana em casos de infecção. Equipe: Renata Santos Rodrigues, Núcia Cristiane da Silva Lima e Najla Benevides Matos. Instituição de Fomento: CNPq, IPEPATRO.

**Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli enteropatogênica* (EPEC) típica e atípica isoladas de crianças com gastroenterite aguda em Porto Velho/RO.** Antimicrobianos são substâncias que provocam morte ou inibição do crescimento de microrganismos. O uso indiscriminado e contínuo dessas substâncias tem favorecido o processo de resistência microbiana. *Escherichia coli enteropatogênica* (EPEC) é um dos principais agentes etiológicos responsáveis por causar diarreia infantil, sendo dividida em duas categorias: EPEC típica que apresenta o *Locus Enterocyte Effacement* (LEE) e o Plasmídeo EAF (*EPEC Adherence factor*), e EPEC atípica que é desprovida desse plasmídeo. O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de 15 cepas de EPEC típica e 102 EPEC atípica isoladas de crianças de 0 a 6 anos com o quadro clínico de gastroenterite aguda, admitidas no Hospital Infantil Cosme e Damião em Porto Velho/RO, no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2012. As amostras foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de difusão em disco de Kirby & Bauer, conforme recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), utilizando discos impregnados com os antibióticos: Cefuroxima (CRX), Gentamicina (GEN), Imipenen (IPM), Piperacilina+Tazobactam (PPT), Tetraciclina (TET), Trimetoprim - Sulfametoxazol (SUT), Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMC), Amicacina (AMI), Ampicilina (AMP), Cloranfenicol (CLO), Ciprofloxacina (CIP) e Ceftazidima (CAZ). Dos 12 antibióticos testados para EPEC, AMP, SUT e TET foram os que apresentaram maior frequência de resistência, com 59,8% (70/117), 54,7% (64/117) e 39,3% (46/117), respectivamente. Os antibióticos que apresentaram maior percentual de sensibilidade foram: CAZ com 94,9% (111), CIP 93,2% (109), AMI 89,7% (105), CLO 87,2% (102), PPT 87,2% (102), GEN 82,1% (96), IPM 80,3% (94) e AMC 67,5% (79). Noventa e dois isolados (78,6%) foram classificados como intermediário para o antibiótico CRX. EPEC típica apresentou maior resistência a AMP, SUT e TET (86,7%, 80% e 66,7%) que EPEC atípica (55,9%, 51% e

35,3%). Os resultados obtidos neste estudo demonstram uma frequência elevada de resistência aos antibióticos, fato que é preocupante uma vez que a emergência de cepas resistentes diminui as opções terapêuticas, podendo ocasionar em maior morbidade e dificuldade do tratamento. Equipe: Renata Santos Rodrigues, Núcia Cristiane da Silva Lima e Najla Benevides Matos. Instituição de Fomento: CNPq, IPEPATRO.

**Estudo fenotípico e genotípico de enteropatógenos isolados de análises coproscópicas de indivíduos infectados pelo HIV/AIDS, no município de Porto Velho – RO.** Os enteropatógenos caracterizam-se por importante causa de infecções gastrointestinais em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana – HIV. Principalmente os portadores de contagem CD4 > 200 mm<sup>3</sup>. As condições socioeconômicas, cultural e ambiental são determinantes para que ocorram com maior frequência os casos de gastroenterites nesse grupo de risco. O número de internações por gastroenterites é maior onde o investimento em saneamento básico é menor e a região norte é a que apresenta os índices mais baixos de qualidade de saneamento, segundo SNIS 2010, divulgado em 2012, somente 4,1% do investimento do país foram destinados a esta região. Algumas infecções comportam-se como oportunistas outras como assintomáticas e dependendo das condições imunológicas dos indivíduos. Podem ser causados por grupos de bactérias, vírus, protozoários, helmintos e fungos, onde o diagnóstico laboratorial torna-se muitas vezes deficiente quando se trata de um grande espectro para encontro de enteropatógenos, não sendo aplicadas em rotina laboratorial no serviço de saúde, técnicas mais específicas e necessárias, como também não sofrem solicitações pela equipe de saúde, o que se torna uma rotina. Dessa forma considera-se importante identificar os enteropatógenos nos pacientes soropositivos de todas as idades internados ou não, assistidos pelo Serviço de Atendimento Especializado (SAE) da unidade do Posto de Saúde Rafael Vaz e Silva e da Policlínica Oswaldo Cruz para portadores do vírus HIV no município de Porto Velho – RO. Como forma de estabelecer parcerias com o serviço prestado ao paciente, bem como de trabalhar a importância da prevenção dos enteropatógenos dentro da realidade regional existente, melhorando a qualidade de vida dos portadores do vírus da imunodeficiência humana. Equipe: Flávia Serrano Batista, Márcia Benedita de Oliveira Silva e Najla Benevides Matos.

#### 4. PUBLICAÇÕES

##### 4.1. Artigo publicado em revista indexada

- 01 Amaral, M.S.C.; Estevan, G.K.; Penatti, M.P.; Soares, L.A.; Ferreira, R.G.M.; Pereira-da-Silva, L.H.; Orlandi, P.P.; Matos, N.B. *Detection of rotavirus in children with acute gastroenteritis in Porto Velho, Rondônia, Brazil. Archives of virology*, 2013. DOI: 10.1007/s00705-013-1847-8.

##### 4.2. Artigo aceito para publicação

- 01 Najla Benevides-Matos; Fabio A. Pieri; Marilene Penatti; Patrícia P. Orlandi. *Adherence and virulence genes of Escherichia coli from children diarrhoea in the Brazilian Amazon . Brazilian Journal of Microbiology* ID BJM-2013-0917.R1.

##### 4.3 Artigo em preparação

- 01 Amaral, M.S.C.; Estevan, G.K.; Penatti, M.; Gabbay, Y.B.; Matos, N.B. *Prevalence of Norovirus, Astrovirus, and Adenovirus type 40 and 41 infections among hospitalized children with acute gastroenteritis in Porto Velho, Rondonia, Brazil.*
- 02 Albuquerque, A.V.; Matos, N.B. Caracterização do padrão de resistência aos antibióticos das cepas de *Klebsiella* sp. Isoladas de crianças na região de Porto Velho-RO.
- 03 Rodrigues, R.S., Lima, N.C., Matos, N.B. *Antibiotic resistance and biofilm formation in diarrheagenic Escherichia coli (EPEC) from Porto Velho - Rondonia, Brazil.*

##### 4.3. Resumo Estendido

- 01 Vieira, D.S., Santos, J. V, Ludervanhe, F.R., Cunha-Pereira, A.V., Botelho, L.F., Santos, A.O., Silva Lima, N.C., Benevides Matos, N., Salcego, J.M.V. Etiologic Identification of Acute Viral Respiratory Infections Among Children in Porto Velho-Rondonia. XXIV Congresso Brasileiro de Virologia e VII Encontro de virologia do Mercosul em Porto Seguro-Bahia 2013.
- 02 Fo Rodrigues, R.S., Lima, N.C., Matos, N.B. Formação de biofilme em cepas de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) típica e atípica isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho/RO. 27° Congresso Brasileiro de Microbiologia, Natal 2013.
- 03 Rodrigues, R.S., Lima, N.C., Silva, A.R.F., Gomes, T.A.T., Matos, N.B. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) típica e atípica isoladas de crianças com gastroenterite aguda em Porto Velho/RO. 27° Congresso Brasileiro de Microbiologia, Natal 2013.



## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientações em Andamento

- 01 LUIS ANTONIO SILVA. **Mestrado**. Caracterização das cepas de *Escherichia coli* enteroagregativa isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho-RO. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental, Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Dr<sup>a</sup>. Najla Benevides Matos.
- 02 JOSÉ RIBEIRO DE OLIVEIRA. **Mestrado**. Colonização e suscetibilidade aos antimicrobianos das cepas de *streptococcus pneumoniae* isoladas da nasofaringe de crianças com infecção respiratória aguda na região de Porto Velho-RO. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental, Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Dr<sup>a</sup>. Najla Benevides Matos.
- 03 IRIS REGINA SANTOS MARQUES. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Caracterização de cepas de *Shigella spp.* isoladas de população infantil na região de Porto Velho-RO. (Graduando em Biomedicina). Orientador: Dr<sup>a</sup>. Najla Benevides Matos.

### 5.2. Orientações Concluídas

- 01 ALDILENE VIEIRA DE ALBUQUERQUE. **Iniciação Científica**. Caracterização do Padrão de resistência aos antibióticos das cepas de *Klebsiella sp.* isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho-RO. (Graduando em Ciências Biológicas). Orientador: Dr<sup>a</sup>. Najla Benevides Matos.
- 02 MARIA DE FÁTIMA RODRIGUES AGUIAR. **Iniciação Científica**. Estudo do potencial de adesão em células HeLa das *Escherichia coli* não-diarreogênicas isoladas de crianças de 0 – 6 anos no município de Porto Velho-RO. (Graduando em Ciências Biológicas). Orientador: Dr<sup>a</sup>. Najla Benevides Matos.
- 03 RENATA SANTOS RODRIGUES. **Mestrado**. Caracterização das cepas de *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) típica e atípica isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho-RO. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental, Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Dr<sup>a</sup>. Najla Benevides Matos. Co-orientador: Dra. Tania A. Tardelli Gomes do Amaral.

## PLATAFORMA TÉCNICA



### 1. RECURSOS HUMANOS

#### 1.1. Pesquisador Principal

Dr<sup>a</sup>. Deusilene Souza Vieira (Pesquisador Responsável)  
<http://lattes.cnpq.br/9563593830946503>

#### 1.2. Equipe

Alcione de O. dos Santos, Fiocruz Rondônia e UNIR - Doutoranda PGBIOEXP  
Luan Felipe Botelho, IPEPATRO e UNIR - Mestrando PGBIOEXP.  
Vanessa Baffini Rampasso, UNIR - Mestranda PGBIOEXP  
Fabiane Araújo Gomes dos Santos Alves, UNIR - - Mestranda PGBIOEXP  
André Vinycius Cunha, PIBIC/FIOCRUZ-RO  
Jileade das Virgens Santos, PIBIC/FIOCRUZ-RO

#### 1.3. Colaborações Internacionais

PhD. Glaucia Paranhos Baccala/Biomerieux/Pesquisadora  
MSc. Marrie Gauthier/Biomerieux/Pesquisadora  
PhD. Guy Vernet/Biomerieux/Pesquisador

#### 1.4. Colaborações Nacionais

Dr. Juan Miguel Villalobos Salcedo - Médico e Pesquisador FIOCRUZ-RO  
Dr<sup>a</sup>. Najla Benevides Matos - Pesquisadora FIOCRUZ-RO  
Dr<sup>a</sup>. Michele S. Gomes Gouvêa, Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina, USP.

### 2. INFRAESTRUTURA

O Laboratório Plataforma Técnica possui infraestrutura para desenvolvimento de pesquisas envolvendo patógenos virais com equipamentos na área de biologia molecular para identificação, caracterização e genotipagem (e/ou sorotipagem), clonagem e expressão de proteínas. O aparelho de PCR em tempo real está inserido dentro da plataforma RPT 09F 1 da FIOCRUZ com objetivo de realizar os seguintes ensaios: padronização e validação, detecção qualitativa e quantitativa; identificação e genotipagem de patógenos infecciosos, avaliação de testes quanto à sensibilidade, especificidade, eficiência e reprodutibilidade.

### 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

#### 3.1. Linhas de Pesquisa

Identificação e caracterização molecular dos vírus das hepatites B, C e Delta; Genotipagem e análise filogenética do HBV, HCV e HDV; Análise de resistência aos antivirais utilizados no tratamento da hepatite B; Produção, padronização e implantação de diagnósticos qualitativo, quantitativo e genotípico para os vírus B, C e Delta; Perfil epidemiológico e molecular das infecções respiratórias em população infantil.

#### 3.2. Projetos

##### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

**IDENTIFICAÇÃO DO VÍRUS DA HEPATITE B (HBV) EM AMOSTRAS DE PRIMATAS NÃO-HUMANOS NO ESTADO DE RONDÔNIA, BRASIL.** Introdução: O vírus da Hepatite B (HBV) pertence à família *Hepadnaviridae* onde estão classificados dois gêneros: *Avihepadnavirus* que infecta aves e o *Orthohepadnavirus* que infecta mamíferos. Já foram descritas infecções por HBV em primatas não-humanos em macacos do Velho Mundo, chimpanzés e gorilas na África subsaariana, gibões e orangotangos no Sudeste da Ásia, e em macacos do Novo Mundo, sendo filogeneticamente distintos entre si. Em geral as taxas de infecções por HBV nesses animais são altas quando comparadas as infecções em humanos em regiões endêmicas. Entretanto, a origem dessas infecções ainda não está evidenciada. Embora não existam evidências de que humanos foram ou estão sendo infectados com as cepas de HBV de primatas não-humanos, a existência de um possível reservatório poderia representar uma ameaça para a erradicação ou controle da hepatite B humana. Objetivo geral: Identificar e caracterizar o vírus da hepatite B em amostras de primatas não-humanos do estado de Rondônia. Materiais e métodos: Foram incluídas amostras de primatas não-humanos de 10 municípios no estado de Rondônia e estados que fazem fronteira como MT e AC. A partir dessas amostras foi amplificado o genoma viral do HBV (fragmento de 741pb) que foi submetido ao sequenciamento. As sequências foram alinhadas utilizando o Clustal X 2.1 e a árvore filogenética produzida com o software Mega 5.01. Resultados e discussão: De um total de 164 amostras, 49 amostras já foram analisadas por PCR convencional. Das 49 amostras analisadas, 17 foram positivas e 32 negativas. A análise filogenética realizada com 4 amostras e sequências de HBV de humanos e primatas não-humanos (de estudos anteriores) revelou que os vírus isolados eram relacionados com o genótipo A humano e dividem um ancestral comum com esse genótipo, diferentemente dos isolados a partir de Primatas do Velho Mundo. As amostras positivas pertenciam à animais que viviam em áreas florestais que continham algum impacto humano recente ou passado, o que pode ter aumentado a proximidade do contato entre humanos e primatas não-humanos.

**IDENTIFICAÇÃO DO VÍRUS DA HEPATITE DELTA EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS DO ESTADO DE RONDÔNIA.** Introdução: O vírus da Hepatite Delta (HDV) é um agente infeccioso descrito em 1977 que afeta o fígado e está associado à co-infecção ou superinfecção com portadores do vírus da hepatite B. A prevalência do HDV varia amplamente dependendo da região geográfica. No Brasil, o vírus da hepatite Delta tem sido reportado na região da Amazônia Ocidental, onde um grande número de casos de infecção aguda e crônica pelo HDV tem sido descrito. Apesar da alta incidência da infecção em humanos, no Brasil, e principalmente na Amazônia Ocidental não há estudos publicados que relatem a infecção pelo vírus Delta em primatas não-humanos, uma vez que, esses animais são conhecidamente portadores do HBV (condição para infecção pelo vírus Delta) ao redor do mundo. **Objetivos:** Identificar o vírus Delta (HDV) em amostras de primatas não-humanos do estado de Rondônia e Genotipar o HDV utilizando uma Nested PCR-RFLP e sequenciamento. Materiais e métodos: Foram incluídas 17 amostras de primatas não-humanos que viviam em áreas florestais no estado de Rondônia. A partir dessas amostras foi extraído o RNA viral que foi submetido à uma RT-PCR. O fragmento amplificado (406pb) foi analisado filogeneticamente. Além disso, os fragmentos amplificados foram digeridos com enzimas de restrição com a finalidade de genotipar o HDV desses animais através da técnica de RFLP. Resultados e discussão: Das 17 amostras testadas, 4 delas foram positivas na RT-PCR, correspondente aos animais das espécies *Sapajus apela*, *Alouattapuruensis* e *Pitheciariorata*. A descrição das amostras analisadas e o resultado das respectivas amostras estão contidas na tabela abaixo. O resultado da genotipagem por RFLP mostrou através do padrão de restrição que as amostras positivas pertenciam ao genótipo 1. O resultado da genotipagem foi confirmado através do sequenciamento em comparação com os oito genótipos do HDV humano que confirmou o genótipo 1 desses isolados. Esses animais viviam em fragmentos florestais que sofrem ou sofriam algum impacto antrópico, o que acaba aproximando os animais do contato com os seres humanos, apesar disso, estudos adicionais são necessários para avaliar o padrão de infecção desses animais.

**ANÁLISE COMPARATIVA DA SENSIBILIDADE DE KITS SOROLÓGICOS NA DETECÇÃO DE AMOSTRAS DE HEPATITE B COM ANTI-HBc TOTAL ISOLADO.** Introdução: O vírus da hepatite B (HBV) pertence à família *Hepadnaviridae* e apresentam tropismo por células hepáticas. Os exames específicos para o diagnóstico da infecção são os sorológicos, baseados na detecção dos antígenos virais e seus respectivos anticorpos e os de biologia molecular que detectam o DNA do HBV. Os testes mais utilizados no diagnóstico sorológico são os ensaios imunoenzimáticos (EIA). Atualmente existem no mercado inúmeros kits para

deteção e quantificação do HbsAg com diferentes limites de sensibilidade, por isso se faz necessário a aplicação de testes de maior sensibilidade para a detecção e monitoramento da hepatite B. **Objetivo geral:** Comparar a sensibilidade e aplicabilidade de kits sorológicos na detecção de amostras com anti-HBc total isolado. **Materiais e métodos:** Foram incluídas 40 amostras de pacientes com perfil sorológico para anti-HBc isolado. As amostras foram submetidas aos testes sorológicos de acordo com as normas estabelecidas por cada fabricante. Os resultados foram analisados através de cálculos estatísticos para a construção dos parâmetros sorológicos, levando-se em conta, as limitações de reprodutibilidade da técnica. Para tais cálculos foi utilizado o software MedCalc versão 11.2 e o Microsoft Office Excel para construção dos gráficos. **Resultados e discussão:** as amostras foram testadas com três testes diferentes. Dois destes testes são imunoenzimáticos (ELISA) e o outro teste é imunocromatográfico (Teste rápido). O teste que apresentou maior número de amostras positivas foi o Murex (DiaSorin), e o teste com maior número de resultados indeterminados foi o ETI-MAK-4 (DiaSorin). As amostras indeterminadas são aquelas cujos valores de densidade óptica (DO) estão incluídos na zona cinza (borderline). A zona cinza compreende a faixa de valores em torno do cut-off, dentro da qual não se pode ter certeza do resultado. No teste rápido imunocromatográfico foi observado que algumas amostras apresentavam como resultado uma banda de cor muito fraca, característica de amostras que contém pouco antígeno (HBsAg). Isso pode causar dúvidas no analista no momento da interpretação dos resultados, por isso é fundamental a utilização da tira de comparação (cedida pelo fabricante do kit) para uma melhor interpretação dos resultados. Essas amostras também apresentaram um baixo valor de absorvância pelo teste imunoenzimático, o que pode explicar o aparecimento de uma banda de cor muito fraca no teste rápido.

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE RINOVÍRUS NA POPULAÇÃO INFANTIL DE PORTO-VELHO/RO.** **Introdução:** As infecções respiratórias agudas (IRAs) são as principais causa de infecção em crianças com menos de cinco anos. As IRAs são causadas por diversos agentes etiológicos, sendo os agente virais os principais causadores da infecção. O *Rinovírus humano* (HRV) é um vírus de RNA, causador mais frequente do resfriado comum, podendo evoluir para quadros infecciosos mais graves em crianças. O HRV estar classificado em espécies A, B, e C que abrange 100 sorotipos diferentes. Este estudo tem por objetivo identificar e caracterizar molecularmente o HRV na população infantil atendida no Hospital Infantil Cosme Damião em Porto Velho-RO, sendo considerado centro de referência em atendimento pediátrico no Estado. **Materiais e métodos:** A população de estudo inclui crianças de 0 a 6 anos de idade que apresentaram sinais clínicos de IRAs. Amostra biológica utilizada foi aproximadamente 1 a 2 ml de secreção nasal coletada por meio de um swab. A técnicas moleculares de RT-PCR e RT-PCR em tempo real serão utilizadas para análise molecular. **Resultados e Discussão:** Foram analisadas 203 amostras através da técnica de PCR em tempo real, usando o sistema SYBR Green com primers descrito na literatura adaptados a partir da RT-PCR convencional. Das 203 amostras analisadas 168 foram positiva para HRV através da técnica de Real Time PCR. O gênero com maior detecção viral foi o masculino com 51%, equivalente aos estudos realizados por Bonfim e colaboradores (2011). A faixa etária mais acometida para HRV foi de 0 a 1 ano, sendo bastante recorrente infecção respiratória superior durante essa fase. A distribuição por localidade para detecção viral foi maior na região zona leste de Porto-Velho/RO com 30% (n=168), seguido de 23% (n=168) a zona sul. As regiões caracterizam-se por ser uma região com baixa infraestrutura socioeconômica, com aglomeração de pessoas em residências com pequenas áreas por metro quadrado, favorecendo maior circulação desses tipos de vírus, já que a principal via de transmissão é de pessoa a pessoa. Os sintomas mais frequentes observados foram tosse, coriza, peito cheio e obstrução nasal considerados principais sintomas em infecção respiratória aguda. No resultado do sequenciamento para HRV, até o momento, obteve-se uma sequência indicando infecção pela espécie HRV-A. Os rinovírus humanos foi bastante frequente equivalendo-se as literaturas como principal causador de resfriado comum, estudos de detecção e caracterização molecular são essenciais para entendimento desta patologia.

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE PARAINFLUENZA VÍRUS 1,2 E 3 NA POPULAÇÃO INFANTIL DE PORTO-VELHO/RO.** **Introdução:** O *Parainfluenza vírus* (PIV) são agentes frequentes de infecção do trato respiratório inferior, classificados de PIV 1 a PIV 4, sendo os PIV-1 e PIV-3 principais causadores de infecções do trato inferior em crianças menores de 2 anos, ocasionando manifestações clínicas que caracterizam crupte, bronquiolite e pneumonia. São subdivididos em gêneros diferentes, sendo PIV 1 e 3 ao gênero *Respirovirus* e os PIV 2 e 4 gênero *Rubulavirus*. Os PIV (1,2 e 3) são pleomórficos, envelope derivado da célula do hospedeiro, seu genoma de RNA corresponde 15Kb. Os *parainfluenza vírus* apresentam padrão de ocorrência sazonal sendo considerado relevante causa de doenças respiratórias, logo a necessidade de estudos que relatem a identificação e perfil molecular. Baseado nisto, este estudo tem por objetivo a identificação e caracterização molecular dos PIV 1, 2 e 3 em crianças atendidas no Hospital Infantil Cosme Damião em Porto Velho-RO, considerado centro de referência de atendimento no Estado. **Materiais e métodos:** Amostra biológica utilizada foi aproximadamente 1 a 2 ml de secreção nasal coletada por meio de um swab. A técnicas moleculares de RT-PCR e RT-PCR em tempo real são utilizadas para análise molecular. **Resultados e Discussão:** Foram analisadas 203 amostras através da técnica de PCR em tempo real, usando o sistema SYBR Green com primers descrito na literatura adaptados a partir da RT-PCR convencional para identificação dos *parainfluenza vírus*. Das 203 analisadas, 92 foram positivas por meio da técnica de Real Time PCR. Quanto a faixa etária observada no estudo as mais acometidas foram crianças 0 a 2 anos de idade. A distribuição por localidade para detecção viral foi maior na região zona leste de Porto-

Velho/RO com 32% (n=92) e a segunda região com maior ocorrência foi a zona sul, regiões caracterizadas por grande ocorrências de invasões territoriais desordenada que levam a baixa infraestrutura socioeconômica. Os meses com maior frequência, quanto a distribuição de detecção viral por meses de coleta, foram os meses de maio (16%), abril(14%), junho(12%), setembro(12%) e fevereiro(10%), onde os meses de maio e setembro meses de transição de inverno a verão. As amostras analisadas serão submetidas a sequenciamento e análises filogenética para devida caracterização. O número de detecção foi relativamente considerável, principalmente por ser um vírus bastante recorrente em crianças, assim reforçando a necessidade de mais estudos que caracteriza os tipos virais presentes na região.

#### **HEPATITE B OCULTA: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR EM INDIVÍDUOS ANTI-HBc TOTAL ISOLADO NO ESTADO DE RONDÔNIA.**

**Introdução:** A infecção oculta pelo HBV é caracterizada pela presença do DNA viral no soro de indivíduos com HBsAg negativo. O verdadeiro papel do anti-HBc isolado como fator predisponente para infecção oculta pelo HBV ainda não está claro. Este estudo tem por objetivo a caracterização molecular deste padrão sorológico, contribuindo para o conhecimento da infecção oculta e elucidar os mecanismos moleculares relacionados na alteração na expressão de diferentes proteínas pelo vírus da hepatite B. **Materiais e métodos:** Serão selecionados 150 indivíduos com anti-HBc isolado, a princípio para os ensaios moleculares será utilizado um conjunto de primeiros que amplificam um fragmento de 109pb da região pré-core. Posteriormente as amostras positivas na primeira PCR, serão submetidas a amplificação do genoma completo do HBV e sequenciamento para análise de mutações e genotipagem. As sequências obtidas serão alinhadas com sequências referências extraídas do GenBank utilizando software Clustal X e depois editadas com Se-Al software. Análises filogenéticas serão realizadas pela Cadeia de Markov Monte Carlo abordagem (MCMC), utilizando BEAST v.1.5.3. **Resultados e Discussão:** Foram selecionadas as 150 amostras com anti-HBc total isolado, dessas foram realizadas a PCR de 23, onde 12 amostras foram positivas na primeira PCR e submetidas a amplificação do genoma completo. No Estado de Rondônia não dispomos de estudos relativos a esse perfil clínico, pelo qual resulta de grande relevância seu desenvolvimento para esclarecimento dos fatores correlatos, verificando até em que ponto o perfil sorológico do paciente anti-HBc isolado, possa corresponder a casos de hepatite B oculta com maior potencial patogênico e repercussões clínicas, ou pelo contrário, resultar em um padrão sem maior importância clínica-epidemiológica.

#### **ANÁLISE MOLECULAR DO VÍRUS DA HEPATITE DELTA ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PCR EM TEMPO REAL E CONVENCIONAL.**

**Introdução:** O vírus da hepatite Delta (HDV) é um patógeno que causa uma infecção grave e rapidamente progressiva nos hepatócitos. E a determinação da quantidade e do genótipo do vírus circulante no sangue de pacientes com a infecção HDV é importante para o diagnóstico, monitoramento do tratamento e para oferecer suporte para estudos de acompanhamento da replicação viral no curso da doença. **Materiais e métodos:** Neste estudo desenvolvemos in house um ensaio capaz de detectar e quantificar o vírus da hepatite Delta através de amostras de soro baseando-se em uma Transcrição reversa-PCR em tempo real quantitativa (*HDV RT-qPCR*) e uma *nested PCR-RFLP* para a genotipagem do HDV. Para a determinação da carga viral foram produzidos dois calibradores padrão *HDV in house*, um *cDNA clonado* em plasmídeo e um transcrito de RNA. Para a validação este ensaio foram utilizadas 140 amostras clínicas de soro, sendo 100 amostras clínicas de pacientes Anti-HDV e antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) positivo por ELISA, 30 amostras clínicas de doadores de sangue, 5 amostras clínicas monoinfectadas pelo vírus da hepatite B (HBV) e 5 amostras monoinfectadas pelo vírus da hepatite C (HCV). Para genotipagem foi estabelecida uma *nested PCR-RFLP*, utilizando XhoI e a SmaI para digerir os amplicons, os resultados corroboraram com as análises por sequenciamento. **Resultados e Discussão:** O desempenho do ensaio HDV RT-qPCR foi melhor quando utilizado o calibrador padrão HDV baseado em *cDNA clonado* em plasmídeo linear com uma eficiência de 99,8% e linearidade de R<sup>2</sup> 0,97 e uma especificidade de 100% nos ensaios in vitro. Este estudo representa o primeiro ensaio HDV RT-qPCR desenvolvido com amostras clínicas do Brasil e oferece um grande potencial para novos estudos de eficácia clínica da terapêutica antiviral para utilização em pacientes com hepatite Delta na região ocidental da Amazônia.

#### **CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS VÍRUS INFLUENZA A CAUSADOR DE INFECÇÃO RESPIRATÓRIA EM POPULAÇÃO INFANTIL ATENDIDOS NA REGIÃO METROPOLITANA DE PORTO VELHO-RO.**

**Introdução:** As infecções respiratórias agudas ainda estão dentre as principais causas de morbidade e mortalidade infantil. Entre os principais vírus que acometem as crianças encontra-se o vírus influenza que é conhecido historicamente por ocasionar a morte de milhões de pessoas em diversas pandemias. Os vírus *influenza A* estão inseridos na família *Orthomyxoviridae*, com material genético de RNA fita simples, envelopado, dividido em 8 segmentos na qual cada um pode codificar uma ou duas proteínas, tendo como as principais: PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M, NS, sendo que devido as recombinações entre os segmentos que codificam as diferentes proteínas HA e NA são responsáveis pelos diversos subtipos deste vírus na qual esta nova variante pode vir a ocasionar pandemia se a população não estiver imunizada. **Objetivo:** Caracterizar molecularmente os vírus influenza causadores de infecção respiratória aguda. **Materiais e Métodos:** Inicialmente realizou-se a coleta de swab nasal e da orofaringe em crianças de 0-6 anos. Na sequência procedeu-se com a extração do RNA e confecção do cDNA por meio da transcrição reversa. Neste estudo foi utilizada PCR em tempo Real pelo sistema *SYBR Green*, para tanto, foram utilizados os primers sense 5' CTAAGGGCTTTCACCGAAGA 3' e antisense 5' CCCATTCTCATTACTGCTTC 3' correspondente

ao gene NS1. Resultados e Discussão: Foi obtido um valor de 43,44% de positividade dentre as amostras analisadas, sendo que a incidência maior ocorreu entre as crianças com idade inferior a 2 anos correspondendo a 76,91%. Dentre os sintomas mais frequentes 92,3% apresentaram tosse, sendo que o mesmo valor também foi encontrado para os sintomas coriza e obstrução nasal, o chiado no peito aparece em segundo lugar, em 76,92%, seguido da respiração difícil 69,23%, peito cheio 61,53% e febre em 61,53% das crianças. A maioria dos casos encontra-se distribuído na zona sul de Porto Velho, com 38,46%, na sequência a zona Leste de Porto Velho apresenta um percentual de 30,76%, o valor de 7,69% de positividade foi encontrado no centro bem como na zona rural, Distrito Nova Jaci e Candeias.

## **IDENTIFICAÇÃO DOS VÍRUS RESPIRATÓRIOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE IMUNOFLORESCÊNCIA.**

**Introdução:** As Infecções respiratórias agudas (IRAs) são causas importantes de morbimortalidade infantil em todo o mundo, principais doenças de saúde pública principalmente em países em desenvolvimento, as IRAs podem ter vários agentes etiológico dentre estes encontra-se os vírus respiratórios. Os vírus que foram analisados pela técnica de imunofluorescência foram *Adenovírus* da família *Adenoviridae*, *Parainfluenza* 1, 2 e 3 da família *Paramyxovirinae*, *Influenza A e B* da família *Orthomyxoviridae* e *Vírus Respiratório Sincicial* família da *Paramyxoviridae*. **Objetivo:** Identificar o agente etiológico pela técnica de imunofluorescência na população de estudo. **Materiais e Métodos:** A coleta foi realizada no Hospital Infantil Cosme Damião (HICD) considerado centro de referência pediátrico do Estado. Foram incluso neste estudo crianças de ambos os sexos, com idade de 0-6 anos que apresentavam sintomas característicos de infecção respiratória aguda. As amostras biológica de secreção nasofaríngea (SNF) foram processadas e submetidas à técnica de imunofluorescência indireta para determinação viral utilizando o painel comercial *Respiratory Panel 1 Viral Screening & Identificação IFA Kit, 250 Tests do fabricante Millipore Cororation, Billerica, MA01821 U.S.A* para pesquisa dos seguintes vírus: adenovírus, vírus sincicial respiratório (VSR), influenza A e B, parainfluenza 1, 2 e 3. **Resultados:** Foram analisadas 60 amostras pela a técnica de IFI, tendo como resultados 22 positivos. Observou-se que dentro das amostras positivas havia mono infecção, dupla infecção e tripla infecção. Dentre as mono infectadas foram 13 amostras positivas para PIV-1(04), PIV-2 (03), Adeno (04), RSV (01) e FluA (01). Verificou-se casos de dupla infecção entre Adeno e RSV (02), PIV-2 e FluA(01), PIV-1 e RSV (02), PIV-1+PIV-3 (02), e ainda, duas amostras com tripla infecção entre os seguintes vírus PIV-2,PIV-3, RSV (01) e PIV-1, PIV-2, Adeno (01). As faixas etárias mais acometidas por infecção respiratória neste estudo foram 0-3 anos. Os sintomas em comum nos pacientes positivos foram: coriza e peito cheio com 70%, tosse e chiado no peito com 55% logo em seguida a febre e obstrução nasal com 40% os demais sintomas ficaram em média de 30% á 10%. A zona leste teve o índice mais alto com 40,90%, a zona norte com 22,72%, a zona sul com 18,18%, a zona rural e outras localidades com 9,09%. O diagnóstico pela a técnica de imunofluorescência e um teste rápido e com o custo baixo, ele permite que haja um tratamento direcionado e eficaz onde os pacientes ficariam menos tempo dentro dos hospitais assim evitados novas infecções, transmissões, medicações que poderia ter um tratamento mais extenso e o uso abusivo dos antibióticos em crianças. Esta pesquisa proporciona soluções baseado nos agentes etiológicos virais.

### **c. Projeto de Pesquisa Encerrados**

Validação de um método “in house” de quantificação baseado em Real Time-PCR para o vírus da hepatite B: aplicação na avaliação da infecção em amostras de pacientes da amazônia ocidental-Brasil.

## **4. PUBLICAÇÕES**

### **4.1. Artigos Publicados em Revistas Indexadas**

- 01 Deusilene Vieira, Marie Gauthier, Larissa Deadame de Figueiredo Nicolete, Alcione Oliveira dos Santos, Carina Picelli, Eduardo Honda, Glaucia Paranhos-Baccalà, Guy Vernet and Juan Miguel Salcedo. Chronic hepatitis B liver disease in patients living in the Amazon region: S gene mutations and genotypes characterization. doi:10.4236/wjcd.2013. Published Online, 2013 (<http://www.SciRP.org/journal/wjcd/>).

### **4.2. Artigos Submetidos**

- 01 Vieira, D.; Santos, A.; Nicolete, L.; Botelho, L.; Mamanía, Q.; Honda, E.; Paranhos-Baccalá, G.; Salcedo, J. Real-time polymerase chain reaction for quantification and genotyping of hepatitis C virus from patients with chronic infection in the Western Amazon. *Virology Journal*, 2013. 1954443671675281.
- 02 Souza, L.F.B.; Santos, A.O.; Borzacov, L.M.; Honda, E.R.; Juan Miguel Villalobos-Salcedo, J.M.; Vieira, D.S. Development of a reverse transcription quantitative real-time PCR- based (RT-qPCR) system for rapid detection and quantification of hepatitis delta virus (HDV) in the western amazon region, Brazil.
- 03 Souza, L.F.B.; Santos, A.O.; Borzacov, L.M.; Honda, E.R.; Villalobos-Salcedo, J.M.; Vieira, D.S. Development of method ultra-sensitive for detection low HBV-DNA levels by nucleic acid amplification test (NAT).

### 4.3. Artigos em Preparação

- 01 Vieira, D.S.;Gomes-Gouvea,M.S.; Ferreira, A.C.; Botelho, , L.F.; Santos,A.O.; Pinho J.R.;Villalobos-Salcedo, J.M. *Virological features of hepatitis delta and B viruses among patients with chronic infection from Rondônia state.*
- 02 André Vinycius Cunha Pereira, Luan Felipe Botelho-Souza, Maisa da Silva Araújo, Mariluce Rezende Messias, Jean Phelippe Boubli, Alcione de Oliveira dos Santos, Luiz Shozo Ozaki, Tony Hiroshi Katsuragawa, Luiz Herman Soares Gil, Chrysoula Gubili, Luiz Hildebrando Pereira da Silva, Juan Miguel Villalobos Salcedo, Deusilene Souza Vieira. *First Evidence of Hepatitis B Virus (HBV) Infection in Free Ranging Neotropical Primates, Rondônia, Brazil*

### 4.4. Resumos em Anais de Congresso

- 01 CUNHA PEREIRA, A. V., VIEIRA D S., BOTELHO-SOUZA, L.F., ARAUJO, M. S., MESSIAS, M. R., SANTOS, A. O., OZAKI, L. S., SILVA, L. H. P., SALCEDO, J. M. V. **Identificação do vírus da Hepatite B em amostras de primatas não-humanos no estado de Rondônia.** In: XVI Simpósio Internacional de Terapêutica em Hepatite Viral e 1º Monotemático de Hepatotoxicidade da Sociedade Brasileira de Hepatologia, 2013, Salvador - Bahia.
- 02 SANTOS, A.O., PEREIRA, A.V.C., BOTELHO, L.F., VIRGENS, J., VIEIRA, D.S., SALCEDO. JMV. **Molecular characterization of occult infection in samples with isolated anti-HBc.** XXIV Brazilian Congress of Virology and VIII Mercocul Meeting of Virology, Porto Seguro, Bahia.

## 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

### 5.1. Orientações em Andamento

- 01 ALCIONE DE O. DOS SANTOS. **Doutoranda.** Hepatite B oculta: caracterização epidemiológica e molecular em indivíduos *anti-HBc* total isolado no estado de Rondônia. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Co-Orientadora: Deusilene Souza Vieira.
- 02 LUAN FELIPO BOTELHO. **Mestrado.** Padronização de um teste qualitativo e quantitativo “*in house*” para detectar a carga viral do vírus da Hepatite Delta por PCR em Tempo Real. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Deusilene Souza Vieira.
- 03 VANESSA BAFFINI RAMPASSO. **Mestranda.** Caracterização molecular dos vírus influenza A causador de infecção respiratória em população infantil atendidos na região metropolitana de Porto Velho-RO. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Deusilene Souza Vieira.
- 04 FABIANE ARAÚJO GOMES DOS SANTOS ALVES. **Mestranda.** Identificação e caracterização molecular de Rinovirus e Parainfluenza 1, 2 e 3 na população infantil de Porto-Velho/RO. Programa de Pós-graduação em Biologia Experimental – Universidade Federal de Rondônia. Orientador: Deusilene Souza Vieira.
- 05 ANDRÉ VINYCIUS CUNHA. **Iniciação Científica.** Análise comparativa da sensibilidade de kits sorológicos para a detecção de amostras de Hepatite B com Anti-HBc total isolado. Curso Farmácia/FIMCA, PIBIC Fiocruz Rondônia. Orientadora: Deusilene Souza Vieira.
- 06 JILEADE DAS VIRGENS SANTOS. **Iniciação Científica.** Identificação dos Vírus Respiratórios através da técnica de Imunofluorescência. Curso Farmácia/FIMCA, PIBIC Fiocruz Rondônia. Orientadora: Deusilene Souza Vieira.

## AMBULATÓRIO ESPECIALIZADO EM HEPATITES VIRAIS



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

### 1. RECURSOS HUMANOS

#### 1.1 Pesquisador Principal

Dr. Juan Miguel Villalobos Salcedo

#### 1.2 Equipe

Dr<sup>a</sup>. Eugenia de Castro e Silva

Dr<sup>a</sup>. Lourdes Maria Borzacov

Kelly Régia Vieira de Oliveira (Biomédica)

Luan Felipe Botelho (Biomédica)

#### 1.3. Colaborações Internacionais

Cristian Trépo, INSERM Unit 271, Université Claude Bernard Lyon, France

John Taylor, Senior Member, Fox Chase Cancer Center, Adjunct Associate Professor of Microbiology, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA

#### 1.4. Colaborações Locais

Deusilene S. Vieira, Bióloga, Doutora, Chefe Plataforma Técnica – Fiocruz-RO

Alcione de Oliveira Santos, Mestre, técnica de laboratório – Fiocruz-RO

#### 1.4. Colaborações Nacionais

Raymundo Paraná, Doutor, Professor Titular Faculdade de Medicina da Bahia

João Renato Rebello Pinho, Laboratório de Gastroenterologia e Hepatologia Tropical, Instituto de Medicina Tropical, Departamento de Gastroenterologia, Faculdade de Medicina da USP

Suiane Costa Negreiros do Valle - Médico Infectologista – Cruzeiro do Sul

### 2. INFRAESTRUTURA

Em outubro de 1993 iniciou-se o atendimento a pacientes portadores de hepatites no Estado de Rondônia, criando-se um Ambulatório Especializado no Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, no intuito de servir de base para futuros projetos de pesquisa. Com a abertura do Programa de Pós-graduação Stricto Sensu da Universidade Federal de Rondônia no campo da Biologia Experimental e Biotecnologia, formou-se um grupo de profissionais que, atuando desde o Ambulatório Especializado, ampliaram seu campo de ação para pesquisa clínica, inicialmente, e tecnológica, num segundo momento, sendo que consolidou-se há dois anos como um grupo multidisciplinar.



### 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

#### 3.1. Linhas de Pesquisa

A linha de pesquisa do grupo de hepatite envolve o estudo clínico e laboratorial das hepatites virais crônicas no Estado de Rondônia.

Conta com duas sublinhas de ação, uma visando a caracterização clínica dos pacientes portadores de hepatites virais, assim como a resposta ao tratamento. Outra sublinha visa o estudo laboratorial assim como o desenvolvimento de biotecnologia orientada para o diagnóstico e possível tratamento destas infecções.

#### 3.2. Projetos

##### a. Projeto de Pesquisa em Andamento

Hepatite B mutante: Caracterização clínico-laboratorial de pacientes portadores de vírus mutante da hepatite B  
Genotipagem do vírus da hepatite B e Delta em pacientes co-infectados e sua correlação com a apresentação clínica

Caracterização clínica e laboratorial dos pacientes portadores de vírus da hepatite C no ambulatório especializado de hepatites e resultado final do tratamento antiviral, no Estado de Rondônia

Desenvolvimento de biotecnologia no campo das hepatites virais, especialmente no referente a expressão de proteínas do vírus de hepatite Delta no intuito de desenvolver um kit diagnóstico sorológico

Implementação dos testes de PCR em tempo real, qualitativo e quantitativo para hepatites B e C, assim como genotipagem do vírus C.

##### b. Projetos de Pesquisa Encerrados

Soroprevalência de Hepatite B e C e acurácia do método sorológico em pacientes com Insuficiência Renal Crônica em Hemodiálise no município de Porto Velho, RO -Amazônia Ocidental".

Prevalência de marcadores de hepatite B em comunidades ribeirinhas do município de Porto Velho

### 4. PUBLICAÇÕES

#### 4.1 Artigos Publicados em Revistas Indexadas

- 01 World Journal of Cardiovascular Diseases, 2013, 3, 506-511 WJCD  
<http://dx.doi.org/10.4236/wjcd.2013.38080> Published Online November 2013  
(<http://www.scirp.org/journal/wjcd/>)  
*Chronic hepatitis B liver disease in patients living in the Amazon region: S gene mutations and genotypes characterization*  
Deusilene Vieira, Marie Gauthier, Larissa Deadame de Figueiredo Nicolete, Alcione Oliveira dos Santos, Carina Picelli, Eduardo Honda, Glauca Paranhos-Baccalà, Guy Vernet, Juan Miguel Villalobos Salcedo.

#### 4.2. Artigos Submetidos

- 01 BOTELHO-SOUZA, LUAN FELIPO ; DOS SANTOS, ALCIONE DE OLIVEIRA ; BORZACOV, LOURDES MARIA ; HONDA, EDUARDO RESENDE ; Villalobos-Salcedo, Juan Miguel ; VIEIRA, DEUSILENE SOUZA. Development of a reverse transcription quantitative real-time PCR-based system for rapid detection and quantitation of hepatitis delta virus in the western Amazon region of Brazil. *Journal of Virological Methods*.
- 02 DE OLIVEIRA DOS SANTOS, ALCIONE ; SOUZA, LUAN FELIPO ; BORZACOV, LOURDES ; VILLALOBOS-SALCEDO, JUAN ; VIEIRA, DEUSILENE . Development of cost-effective real-time PCR test: to detect a wide range of HBV DNA concentrations in the western amazon region of Brazil. *Virology Journal*.

#### 4.3. Artigos em Preparação

- 01 PEREIRA, A. V. C.; VIEIRA, DEUSILENE ; BOTELHO-SOUZA, LUAN FELIPO ; ARAUJO, M. S. ; MESSIAS, M. R. ; SANTOS, ALCIONE OLIVEIRA DOS ; SILVA, L. H. P. ; VILLALOBOS-SALCEDO, J. M. . Identificação de Vírus da Hepatite B em Amostras de Primatas Não-Humanos no Estado de Rondônia.
- 02 BORZACOV, L. M. ; SANTOS, A. O. ; BOTELHO, L. F. S. ; VIEIRA, D. S. ; VILLALOBOS-SALCEDO, J. M. . Treatment of chronic Hepatitis Delta with Pegylated Interferon-Alpha plus Entecavir in patients from Western Amazon Region, Brazil.

#### 4.4. Resumos Estendido

- 01 Pereira, A. V. C.; Vieira, Deusilene; Botelho-Souza, Luan Felipe; Araújo, M. S.; Messias, M. R.; Santos, Alcione Oliveira dos; Silva, L. H. P.; Villalobos-Salcedo, J. M.. Identificação de Vírus da Hepatite B em Amostras de Primatas Não-Humanos no Estado de Rondônia. In: XVI Simpósio Internacional de Terapêutica em Hepatite Viral e 1º Monotemático de Hepatotxicidade da Sociedade Brasileira de Hepatologia, 2013, Salvador. Anais do XVI Simpósio Internacional de Terapêutica em Hepatite Viral, 2013.
- 02 Villalobos-Salcedo, J. M.; Zan, D. G. ; Bento, I. A. . Relação entre a resposta terapêutica e a queda na quantidade absoluta de leucócitos em pacientes tratados para hepatite C no município de Porto Velho. In: XVI Simpósio Internacional de Terapêutica em Hepatite Viral e 1º Monotemático de Hepatotxicidade da Sociedade Brasileira de Hepatologia, 2013, Salvador. Anais do XVI Simpósio Internacional de Terapêutica em Hepatite Viral, 2013.

#### 4.7. Resumos

- 01 Martins, A. S.; Botelho-Souza, Luan Felipe; Vieira, Deusilene; Santos, Alcione Oliveira dos; Villalobos-Salcedo, J. M. Descrição clínica, laboratorial e epidemiológica de 4 pacientes portadores de Hepatite Delta Genótipo I no Estado de Rondônia. In: XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2013, Campo Grande. Anais do XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2013.
- 02 Martins, A. S.; Baiao, A.; Fernandes, L.; Melero, T.; Villalobos-Salcedo, J. M. Características Clínico-Epidemiológicas e Laboratoriais de Pacientes Co-infectados por Tuberculose e HIV em Porto Velho, Rondônia entre 2008 e 2012. In: XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2013, Campo Grande. Anais do XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2013.
- 03 Martins, A. S.; Baiao, A.; Fernandes, L.; Melero, T.; Villalobos-Salcedo, J. M. Características Clínico-Epidemiológicas dos Casos de Tuberculose no Estado de Rondônia. In: XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2013, Campo Grande. Anais do XLIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2013.

### 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

#### 5.1. Orientações Concluídas

- 01 Diógenes Guimarães Zan. Genotipagem dos polimorfismos do gene IL28B e prognóstico terapêutico em indivíduos portadores de hepatopatia crônica pelo vírus C acompanhados no Ambulatório Especializado de Hepatite. Início: 2011. Iniciação científica (Graduando em Medicina) - Universidade Federal de Rondônia, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
- 02 Ingrid Alencar. Genotipagem dos polimorfismos do gene IL28B e prognóstico terapêutico em indivíduos portadores de hepatopatia crônica pelo vírus C acompanhados no Ambulatório Especializado de Hepatite. Início: 2011. Iniciação científica (Graduando em Medicina) - Universidade Federal de Rondônia, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
- 03 Cipriano Ferreira da Silva Júnior. Correlação entre a presença de Leishmania RNA vírus (LRV) e as diferentes formas clínicas da Leishmaniose Tegumentar Americana em Rondônia. Início: 2012. Dissertação (Mestrado em Mestrado Profissional em Ensino em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Rondônia.

#### 5.2. Orientações em Andamento

- 01 Lourdes Maria Pinheiro Borzacov. Interferon Alfa Peguilado como Monoterapia ou em Combinação com Análogo de Nucleosídeo no Tratamento da Hepatite Delta Crônica no Estado de Rondônia. Início: 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia.
- 02 Marcos Massayuki Ito. Detecção de Leishmania RNA vírus em pacientes portadores de leishmaniose de mucosa septal nasal. Início: 2012. Dissertação (Mestrado em Mestrado Profissional Ensino Ciências Saúde) - Universidade Federal de Rondônia.
- 03 Larissa Deadame de Figueiredo Nicolete. Aspectos da ativação linfocitária relacionados à infecção pelo vírus da hepatite Delta. Início: 2011. Tese (Doutorado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia.
- 04 Alcione de Oliveira dos Santos. Hepatite B oculta: caracterização epidemiológica, clínica, laboratorial e molecular de pacientes Anti-HBc total isolado no Ambulatório Especializado de Hepatites, Porto Velho, Rondônia. Início: 2011. Tese (Doutorado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia.

#### 5.3. Cursos Ministrados

3º. Congresso de Farmácia e Bioquímica de Rondônia. Aspectos Gerais, Clínicos e Epidemiológicos das Hepatites Virais. 2013.

## LABORATÓRIO DE VIROLOGIA (ARBOVÍRUS)



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

### 1. RECURSOS HUMANOS

#### 1.1 Pesquisador Principal

Dr. Weber Cheli Batista

<http://lattes.cnpq.br/9634343208368546>

#### 1.2 Equipe

Angélica de Medeira Nunes: graduanda em Biomedicina pelas Faculdades Integradas “Aparício Carvalho”- FIMCA e bolsista do Centro Integrado Empresa-Escola (CIEE).

Angelina Moraes Silva: graduanda em Biomedicina pelas Faculdades “Integradas Aparício Carvalho” – FIMCA e Bolsista do Programa Interinstitucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).

#### 1.3 Colaborações Nacionais

Dr<sup>a</sup>. Juliana Pavan Zuliane - Laboratório de Imunologia - FIOCRUZ Rondônia

Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo - Centro de Pesquisa em Virologia - FMRP-USP

Dr. Benedito Antônio Lopes da Fonseca - FMRP-USP

Dr. Victor Hugor Aquino - FCFRP-USP

Dr. Paolo Marinho de Andrade Zanotto - ICB-4-USP

Dr. Spartaco Astolfi Filho - UFAM e REALGENE

Dr<sup>a</sup>. Cláudia Nunes Duarte da Silva - ICC-FIOCRUZ.

### 2. INFRAESTRUTURA

O Laboratório possui aproximadamente 75m<sup>2</sup>, divididas em 3 salas de de 25m<sup>2</sup>, que anteriormente eram enfermarias do CEMETRON, com um corredor de acesso, pequeno espaço para sala escura, um almoxarifado pequeno e banheiro. Na primeira sala divide-se o espaço entre a locação da chefia, locação dos alunos com computadores e impressoras e locação para exames sorológicos com centrífuga e um espectrofotometro para leitura de placas de ELISA. Na segunda sala está a locação para biologia molecular e uma locação em separado para eletroforese e transiluminador Ultra Violeta, a sala escura. No local onde são realizados procedimentos de biologia molecular encontra-se uma centrífuga clínica, uma centrífuga refrigerada, termocicladores, freezers e microondas. Na sala escura, por supostamente haver contaminação por brometo de etídio, se encontram as cubas de eletroforese e material para suporte de preparação de gel de agarose, tampões, fontes de energia elétrica e um transiluminador UV. Seguindo pelo corredor encontra-se um pequeno almoxarifado, onde os materiais de consumo e alguns materiais de uso permanente são mantidos em segurança. O banheiro que foi aproveitado de uma das enfermarias. Na terceira e ultima sala é realizado a cultura celular, estrategicamente foi colocada na última sala para evitar o movimento de pessoas. A porta foi cortada e colocada um vidro para visualização do interior da sala sem a necessidade de abri-la e feito uma ante-

sala de madeira com envidraçamento para impedir o fluxo de direto de ar. Nesta sala existe duas cabinas de fluxo laminar Classe II A2, uma somente para manuseio de células e outra para extração de RNA viral diretamente do soro do paciente ou de fluído de cultura celular. A sala ainda possui um microscópio óptico invertido trinocular, com possibilidade de captura de imagens e duas estufas, uma bacteriológica e outra de CO<sub>2</sub>. Possui ainda uma centrífuga refrigerada e um thermomixer que permite a extração de RNA viral sem a circulação pelo laboratório com as amostras nas diferentes fase da extração, impedindo assim a contaminação dos procedimentos de RT-PCR.

### 3. PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

A linha de pesquisa principal é denominada “Mapeamento de Arboviroses no Estado de Rondônia”, atualmente está dividida na formatação abaixo. Porém a formação pode sofrer mudanças de acordo com a evolução de epidemias ou a necessidade de Vigilância Epidemiológica nos municípios do estado de Rondônia.

#### 3.1. Linhas de Pesquisa

**Análise epidemiológica molecular de arbovírus nos municípios do eixo da BR-364 em Rondônia.** As arboviroses estão frequentemente associadas a epidemias em seres humanos, dentre elas a dengue é a que mais representa sérios problemas de saúde com impactos sociais e econômicos. A necessidade constante de vigilância epidemiológica dos arbovírus no Estado de Rondônia esta caracterizada pelo estado situar-se em uma região propícia do Brasil. O estado é cortado pela BR-364 que liga o sul do país ao Acre, por outro lado à mesma rodovia liga o Peru ao sul do país, permitindo assim o trânsito de carros, caminhões e ônibus em ambas as direções, existem mais de 1.000 km de fronteiras com o país vizinho, a Bolívia, fronteira feita pelos rios Guaporé e Mamoré, quase não monitorada permitindo a entrada de pessoas doentes. Os únicos postos de saúde de fronteira existem em Cabixi e Guajará-Mirim e são em parte ineficientes na contenção de possíveis epidemias. A expansão de áreas rurais com a derrubada das florestas faz o homem hospedeiro acidental de várias viroses consideradas emergentes. Por outro lado, falta de definição dos distritos de Porto velho, sendo considerado por nós uma zona rural urbanizada serve como ponto de apoio aos viajantes. Agência de Fomento: CNPq, Fiocruz Rondônia.

**Análise epidemiológica molecular do vírus dengue no Estado de Rondônia.** A dengue é considerada a arbovirose de maior incidência e prevalência, constituindo um grave problema de saúde pública em regiões tropicais e subtropicais, afetando o homem tanto em termos de morbidade quanto em mortalidade. Atualmente, a febre do dengue e suas formas mais graves, mostram se expansivas na distribuição geográfica e atividades epidêmicas; estando o estado de Rondônia localizado em uma dessas regiões propícia a infecção pelo vírus da Dengue. Onde se fez necessário o estudo pelo desafio de compreender os diferentes aspectos e estrutura biológica dos vírus dengue, utilizando as técnicas de biologia molecular como o isolamento viral em C6/36, extração de RNA, transcrição reversa – RT, Reação em Cadeia da Polimerase - PCR e Hemi-nested-PCR. No entanto, com a aplicação da metodologia descrita, espera-se, realizar a caracterização viral do sorotipo viral do dengue circulante em municípios do Estado de Rondônia. Comparar os sorotipos virais obtidas pelo Laboratório de Virologia com epidemias de anos passados assim como, estabelecer uma relação entre o sorotipo e a patogenia causada por esses vírus. Agradecimento a Secretaria de Saúde do Estado de Rondônia - SESAU. Agência de Fomento: CNPq, Fiocruz Rondônia.

#### a) Projetos de Pesquisa em Andamento

**Análise epidemiológica molecular de arbovírus nos municípios do eixo da BR-364 em Rondônia.** As arboviroses estão frequentemente associadas a epidemias em seres humanos, dentre elas a dengue é a que mais representa sérios problemas de saúde com impactos sociais e econômicos. A necessidade constante de vigilância epidemiológica dos arbovírus no Estado de Rondônia esta caracterizada pelo estado situar-se em uma região propícia do Brasil. O estado é cortado pela Br-364 que liga o sul do país ao Acre, por outro lado à mesma rodovia liga o Peru ao sul do país, permitindo assim o trânsito de carros, caminhões e ônibus em ambas as direções, existem mais de 1.000 km de fronteiras com o país vizinho, a Bolívia, fronteira feita pelos rios Guaporé e Mamoré, quase não monitorada permitindo a entrada de pessoas doentes. Os únicos postos de saúde de fronteira existem em Cabixi e Guajará-Mirim e são em parte ineficientes na contenção de possíveis epidemias. A expansão de áreas rurais com a derrubada das florestas faz o homem hospedeiro acidental de várias viroses consideradas emergentes. A falta de definição dos distritos de Porto Velho, sendo considerado por nós uma zona rural urbanizada serve como ponto de apoio aos viajantes. Os objetivos deste projeto é fazer a vigilância epidemiológica através da sorologia de indivíduos com suspeita de infecção pelo vírus da dengue através de sorologias e detecção e caracterização de arboviroses através de Biologia molecular. Com a perspectiva de investigar os arbovírus circulantes para melhor planejamento de ações em saúde pública em Rondônia. Responsáveis: Weber Cheli Batista, Tony Hiroshi Katsuragawa, Luiz Herman Soares Gil, Mauro Shugiro Tada. Agradecimento a Secretaria de Saúde do Estado de Rondônia - SESAU. Agência de Fomento: CNPq, Fiocruz Rondônia

## b) Projetos de Pesquisa Encerrados:

**Análise epidemiológica, molecular e filogenética dos arbovírus em primatas não humanos no município de Porto Velho-RO.** As arboviroses em sua totalidade são zoonoses mantidas em ambiente silvestre. Consequentemente, as pessoas que mantem contato com focos enzoóticos, como aquelas pessoas que tem contato direto com a floresta, são as que correm maior risco de infecção. O objetivo dessa pesquisa foi realizar um painel de arbovírus circulantes em primatas capturados durante a inundação do lago das usinas de Santo Antônio e Jirau pelo Centro de Triagem de Animais Silvestre (CETAS) da Universidade Federal de Rondônia (UNIR) através da técnica de RT-PCR utilizando primers universais para os principais arbovírus causadores de epidemias em humanos, a saber: Oropouche, Febre Amarela e Mayaro e também não pertencente ao quadro dos primatas, o vírus da dengue. Com a chegada de migrantes e a mudança de cidades para a inundação dos lagos poderá haver quebra dos ciclos enzoóticos e doenças emergentes e reemergentes surgirem. Com o panorama de arbovírus em primatas, facilitaria o tratamento dos pacientes que apresentarem sintomas de arboviroses, principalmente aqueles vindos dos distritos de Porto Velho onde receberiam o lago das Usinas Hidrelétricas. Na tabela 1, o nome científico dos primatas de que foram coletados as amostras e o resultado. Foram usados os primers FG1/FG2 para pesquisa de flavivírus (Bronzoni et al., 2005), M2W/cM3W, para pesquisa de alphavirose (Pfeffer et al., 1997), Febre Amarela, EMF/VD8 (Vasconcelos et al., 2004) e sorogrupo simbu (Orthobunyavirus), o vírus Oropouche BUN-S e BUN-C (Moreli et al., 2002). Os resultados foram negativos para todas pesquisas de arbovírus realizadas. ( Responsável: Dr. Weber Cheli Batista e Hecylana Oliveira de Melo. Agência de Fomento: CNPq, Fiocruz Rondônia.

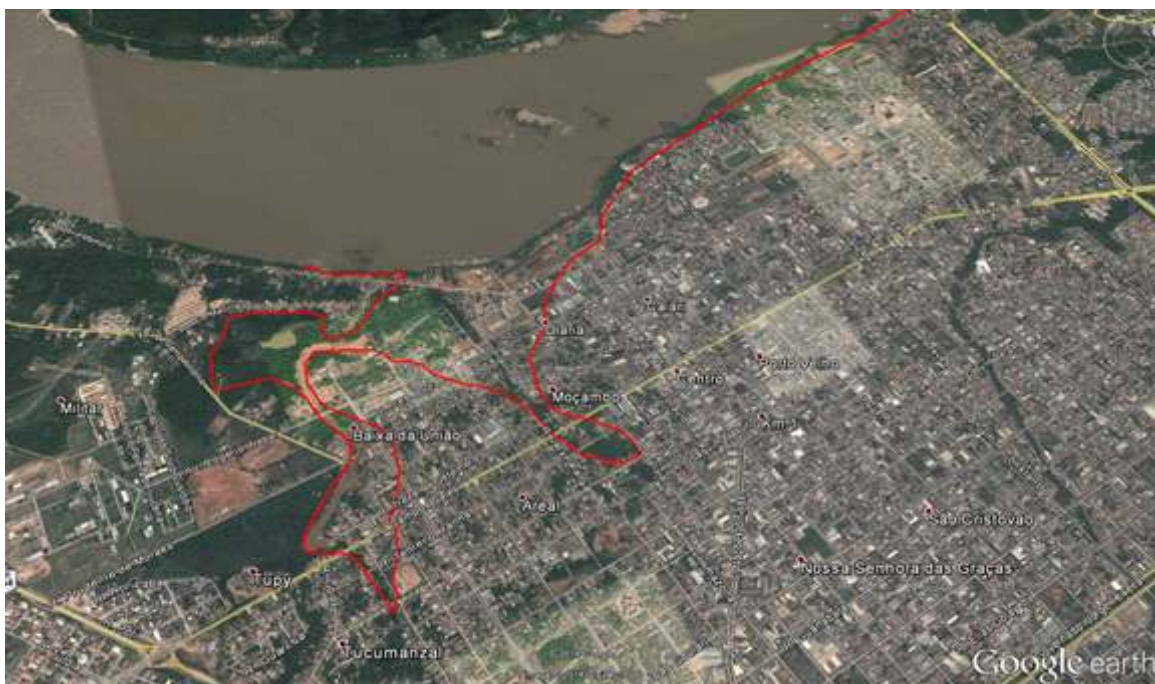
Nº	Nome Científico	Resultado	Nº	Nome Científico	Resultado
1	Callicebus brunneus	Negativo	25	Lagothrix cana cana	Negativo
2	Sapajus apella	Negativo	26	Sapajus apella	Negativo
3	Ateles chamek	Negativo	27	Alouatta puruensis	Negativo
4	Chiropotes albinasus	Negativo	28	Pithecia irrorata	Negativo
5	Saguinus fuscicollis	Negativo	29	Callicebus brunneus	Negativo
6	Alouatta puruensis	Negativo	30	Ateles chamek	Negativo
7	Sapajus apella	Negativo	31	Saguins fuscicollis	Negativo
8	Sapajus apella	Negativo	32	Saimiri ustus	Negativo
9	Callicebus brunneus	Negativo	33	Ateles chamek	Negativo
10	Callicebus brunneus	Negativo	34	Saguinus fuscicollis	Negativo
11	Ateles chamek	Negativo	35	Samiri ustus	Negativo
12	Ateles chamek	Negativo	36	Callicebus brunneus	Negativo
13	Chiropotes albinasus	Negativo	37	Sapajus apella	Negativo
14	Lagothrix cana cana	Negativo	38	Callicebus brunneus	Negativo
15	Sapajus apella	Negativo	39	Sapajus apella	Negativo
16	Cebus albifrons	Negativo	40	Pithecia irrorata	Negativo
17	Pithecia irrorata	Negativo	41	Lagothrix cana cana	Negativo
18	Callicebus brunneus	Negativo	42	Lagothrix cana cana	Negativo
19	Pithecia irrorata	Negativo	43	Sapajus apella	Negativo
20	Sapajus apella	Negativo	44	Lagothrix cana cana	Negativo
21	Lagothrix cana cana	Negativo	45	Callicebus bernhardi	Negativo
22	Ateles chamek	Negativo	46	Lagothrix cana cana	Negativo
23	Ateles chamek	Negativo	47	Sapajus apella	Negativo
24	Ateles chamek	Negativo	48	Macaco Prego	Negativo

Tabela 1 - Nome científico dos primatas e resultado para RT-PCR e Hemi-Nested-PCR para pesquisa de arbovírus

**Análise epidemiológica, molecular e filogenética dos arbovírus em artrópodes hematófagos no município de Porto Velho-RO.** As arboviroses em sua totalidade são zoonoses mantidas em ambiente silvestre onde os mosquitos hematófagos fazem as vezes de reservatórios intermediários. Consequentemente, as pessoas que são picadas por esses mosquitos no contato direto com a floresta, são as que correm maior risco de infecção por arbovírus. O objetivo dessa pesquisa é realizar um painel de arbovírus circulantes em nesses mosquitos hematófagos durante a formação da barragem das usinas de Santo Antônio e Jirau, através da técnica de RT-PCR utilizando primers universais para arbovírus. Com a chegada de migrantes e a mudança de cidades para a inundação dos lagos poderá haver quebra dos ciclos enzoóticos e doenças emergentes e reemergentes surgirem. Esse estudo facilitará o tratamento dos pacientes que apresentarem sintomas de arboviroses. Agradecimento a Secretaria de Saúde do Estado de Rondônia - SESAU. Responsáveis: Weber Cheli Batista, Tony Hiroshi Katsuragawa, Luiz Herman Soares Gil, Hecylana Oliveira de Melo. Agência de Fomento: CNPq, Fiocruz Rondônia.

**Infecção pelo vírus da dengue em 2014, durante a cheia do rio Madeira, em Porto Velho.** As arboviroses têm sido um grave problema de saúde pública enfrentado pela sociedade e seus governantes durante as últimas décadas. Estas doenças de ampla distribuição geográfica são causadas por um grupo de vírus denominado arbovírus, palavra etimologicamente grafada a partir da expressão “arthropod borne virus”, que são definidos assim como vírus que podem ser transmitidos ao homem por vetores artrópodes ou, ainda segundo a Organização Mundial de Saúde – OMS, como “vírus mantido na natureza através da transmissão biológica entre hospedeiros vertebrados susceptíveis por artrópodes hematófagos e por transmissão transovariana e venérea em artrópodes”. Os arbovírus apresentam distribuição predominantemente nas regiões tropicais, onde se encontram condições ecológicas favoráveis para a sua propagação O vírus do dengue possui quatro

sorotipos imunogenicamente definidos DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 que causam doenças febris aguda, podendo eventualmente evoluir para quadros de hemorragia e choque. O dengue é atualmente considerado a mais importante arbovirose que afeta o homem em termos de morbidade e mortalidade. Esta doença ocorre principalmente em países tropicais, em sua maioria em desenvolvimento, causando prejuízos econômicos e sociais por causar a inoperabilidade de trabalhadores e estudantes durante a vigência da doença. Dengue é a doença viral transmitida por artrópode em regiões tropicais e subtropicais, infectando entre 50 a 100 milhões de pessoas anualmente (HALSTEAD, S., 1980). Os casos na América Central e América Latina tem aumentado quase cinco vezes nos últimos 30 anos. Em 2008, mais de um milhão de casos foram notificados nas Américas, com alto número de mortes ocorridas no Cone Sul. Nas duas últimas décadas, o Brasil tem sido responsável por mais ou menos 60% do total dos casos notificados de febre do dengue nas Américas. O rio Madeira é um rio da bacia do rio Amazonas que banha os estados de Rondônia e do Amazonas. É um dos afluentes principais do rio Amazonas. Tem extensão total aproximada de 3.315 km, sendo o 17.º maior do mundo em extensão. nasce com o nome de rio Beni na Cordilheira dos Andes, Bolívia. Ele desce das cordilheiras em direção ao norte recebendo então o rio Mamoré-Guaporé e tornando-se o Rio Madeira - um rio de planície que traça a divisória entre Brasil e Bolívia. Recebe este nome, pois no período de chuvas seu nível sobe e inunda grandes porções da planície florestal, trazendo troncos e restos de madeira da floresta, época em que são negociadas pelos madeireiros e transportadas as costas do rio, A figura 1 mostra os locais atingidos pela cheia do Madeira durante o ano de 2014 (Agradecimentos ao Dr. Tony Hiroshi Katsuragawa).



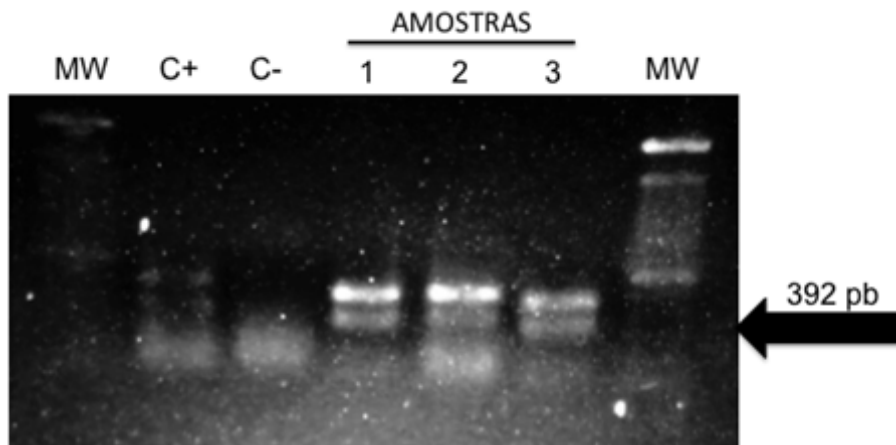
**Figura 1** – Figura mostrando a região alagada pela cheia do rio Madeira, delimitada pela linha vermelha, na cidade de Porto Velho.

A pesquisa se justifica pois esta é multicentro, aproveitando a oportunidade de submeter o material biológico coletado em Porto Velho a equipamentos modernos para identificação de arbovírus circulantes no município, ao mesmo tempo possibilita a comparação do que foi isolado no Laboratório de Arbovírus (FIOCRUZ-RO) com o Laboratório de Virologia Molecular (FCFRP-USP) para uma avaliação da qualidade dos exames realizados. O Laboratório de Virologia da FIOCRUZ Rondônia/IPEPATRO está preparado para realizar o isolamento viral e a sorotipagem molecular dos vírus da dengue, assim como a identificação de outras arboviroses utilizando métodos moleculares como RT-PCR, Semi-nested-PCR e Multiplex-RT-PCR. O sequenciamento gênico terá apoio de outras unidades da FIOCRUZ.

Tem como objetivo geral inserir no estado de Rondônia através de técnicas moleculares a vigilância epidemiológica contra a entrada de sorotipos do vírus da dengue e estabelecer uma co-relação através do desenho de árvores filogenéticas entre as cepas de dengue da fronteira e das cidades margeadas pela BR 364 e objetivos específicos, estabelecer a vigilância epidemiológica no município de Porto Velho durante e após a cheia histórica do Rio Madeira em 2014; estabelecer qual o sorotipo circulante através das técnicas de PCR e Microarray; caracterizar e identificar os vírus da dengue no início das epidemias, para estabelecer critérios médicos avaliativos quanto a necessidade de leitos ou tendas de hidratação; analisar o comportamento genético do vírus do dengue através do sequenciamento gênico e sua análise filogenética com outras cepas isoladas no país e no mundo através do GenBank; fornecer ao município de Porto Velho a sorologia dos pacientes para o tratamento emblemático dos mesmo; e transmitir aos órgãos de saúde responsáveis pela vigilância epidemiológica a tecnologia e inovações adquiridas com a experiência, favorecendo a manutenção constante desse serviço.

Os primers para identificação dos vírus do dengue foram o D1 e D2 que amplifica a sequência entre os genes C e PrM, gerando um fragmento de 511pb, proposto por Lanciotti et al., 1992. Para caracterização do sorotipo viral será realizada a Semi-nested-PCR para caracterização molecular do sorotipo viral do dengue, utilizando o amplicon obtidos com os pares de *primers* D1 e D2, juntamente com o *primer* anti-sensi D1 da PCR e primers específicos TS1, TS2, TS3 e TS4, que geram fragmentos de 482pb, 119pb, 290pb, e 392pb respectivamente, caracterizando o sorotipo viral do dengue de 1 a 4 através peso molecular. Foram analisadas 56 amostras de soro de indivíduos coletados na Policlínica Ana Adelaide de pacientes apresentando sintomas sugestivos para dengue, após consulta médica e realização de hemograma.

Foram positivas 3 amostras para dengue sorotipo 4 durante a cheia histórica do Rio Madeira em 2014.



**Figura 1** - Fotografia mostrando amplicons após corrida eletroforética em gel de agarose 1,5%, corado com Brometo de Etídio 0,1%. Em linha MW: marcador de peso molecular 100pb; Em linha C+: o controle positivo; C-: o controle negativo. Nas linhas 1, 2 e 3: os amplicons representando as 3 amostras positivas para dengue sorotipo 4.



**Figura 2** - Fotografia mostrando amplicons após corrida eletroforética em gel de agarose 1,5%, corado com Brometo de Etídio 0,1% para mostrar o gradiente de temperatura entre 52oC a 56oC.

Para concluir o vírus isolado foi o dengue sorotipo 4; os primers propostos por Lanciotti et al, 1992, são instáveis promovendo o aparecimento de amplicons indesejados; o teste de gradiente de temperatura mostrou que a melhor temperatura de melting foi 55°C; e as bandas indesejáveis não foram eliminadas.

#### 4. PUBLICAÇÕES

##### 4.1. Artigos em Preparação

- 01 Bifano, L.S.; Vieira, D.S.; Batista, W.C. Molecular subtyping of the dengue virus serotype 3 in the state of Rondônia for RSS-PCR.

#### 5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

##### Orientação Concluída:

- 01 Hecylana Oliveira de Melo. Iniciação Científica. Análise epidemiológica molecular e filogenética de arbovírus em primatas não-humanos no município de Porto Velho-RO. Graduada em Ciências Biológicas na Faculdade São Lucas.

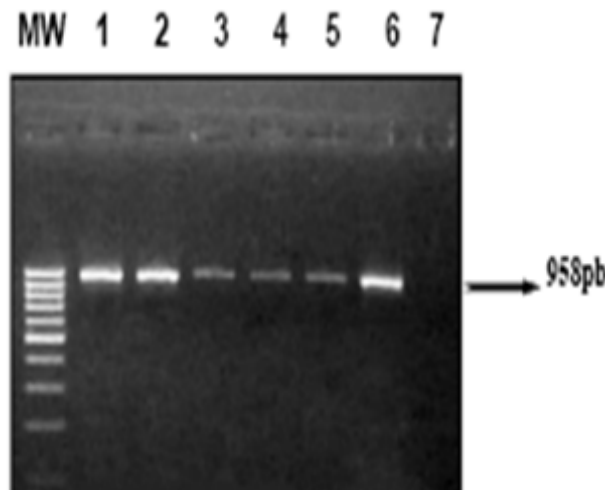
Angélica de Medeira Nunes: Iniciação Científica (Bolsista CIEE). Análise molecular do vírus da dengue no município de Porto Velho. Graduada em Biomedicina, Faculdades Integradas “Aparício Carvalho”-FIMCA.

### Orientação em Andamento:

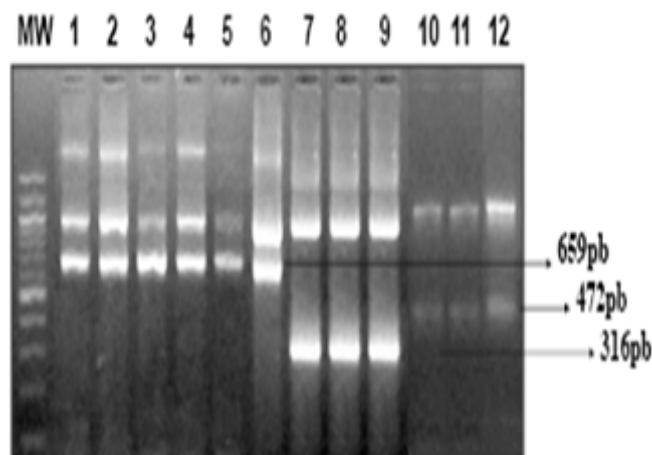
Angelina Moraes Silva: graduanda em Biomedicina pelas Faculdades “Integradas Aparício Carvalho” – FIMCA e Bolsista do Programa Interinstitucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).

### Diagnóstico Especializado e atendimento Referenciado

Foram realizados 36 testes de RT-PCR para dengue, sendo que 18 foram com o RNA viral extraído do próprio soro e outros 18 com o RNA viral extraído de cultura celular. Para extração direto do soro precisamos ainda aprimorar a técnica informações simples para coleta, manutenção e transporte da amostra quando a solicitação for para essa modalidade de exame. Outras 16 amostras foram feitas culturas celulares seguindo o protocolo já estabelecido. Como resultado obtivemos o isolamento de cinco soros positivos com a sorotipagem para dengue sorotipo 3. A figura 1 representa a RT-PCR dos cinco amplicons do vírus do dengue com 958pb feitos com primers universais para Flavivirus FG1/FG2. Na figura 2, observa-se a hemi-nested-PCR realizada com os primers para sorotipagem dos vírus da dengue. Seguindo foram colocados os vírus dengue sorotipo 3, com 659pb, o vírus dengue sorotipo 2 com 316pb e o vírus dengue sorotipo 1, com 472pb para mostrar a diferença de altura dos amplicons para cada sorotipo viral de dengue. (Bronzoni, et al., 2005). Nas mesmas amostras foram realizadas Platelia ELISA NS1 (PanBio, Austrália), sendo 4 positivas e ELISA IgM de Captura (PanBio, Austrália), sendo 14 positivas.



**Figura 1** - Fotografia representativa mostrando amplicons após corrida eletroforética em gel de agarose 1,5%, corado com Brometo de etídio 0,1%. Em linha MW: marcador de peso molecular 100pb; Em linha 1 a 2: amostras de controles positivos. Nas linhas 3 a 6 amostras de soro de pacientes infectados pelo vírus do dengue. Na linha 7: Controle Negativo.



**Figura 2** - Fotografia representativa mostrando amplicons após corrida eletroforética em gel de agarose 1,5%, corado com Brometo de etídio 0,1%. Em linha MW: marcador de peso molecular 100pb; Em linha 1 a 5: amostras de pacientes amplificadas para DENV-3 (659pb); linha 6: C+ (DENV-3); linhas 7-8: : amostras de pacientes amplificadas para DENV-2 (316pb); linha 9: C+ (DENV-2); linhas 10-11: amostras de pacientes amplificadas para DENV-1 (472pb); linha 12: C+ (DENV-1).



# LABORATÓRIO DE EPIDEMIOLOGIA



## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1 Pesquisador Principal

Tony Hiroshi Katsuragawa

<http://lattes.cnpq.br/0162813034326928>

### 1.2 Equipe

Alcides Procópio Justiniano dos Santos Júnior - Biomédico

Alzemar Alves de Lima - Supervisor de campo

Francisco das Chagas da P. de Araújo - Agente de Saúde

Hérgio Araújo Brasil - Agente de Saúde

Josiane Mendes Pandolfo - Biomédica

Marcos Aurélio Rodrigues de Castro - Agente de Saúde

Maria Teixeira do Nascimento Filha - Biomédica

Roberto Nunes Gustavo - Agente de Saúde

Tatiana Marcondes dos Santos - Biomédica

Jeane Maia Zeferino - PIBIC - Acadêmica de Biomedicina

Júlio César Nunes Gazolla - Acadêmico de Medicina

Antônio Moreira Gurgel - Microscopista

Rogério Lima de Souza - Microscopista

### 1.3 Colaborações Nacionais

Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes - UFMT.

## 2. INFRAESTRUTURA

Laboratório possui aproximadamente 20 m<sup>2</sup> com equipamentos para exames bioquímicos e hematológicos.

## 3. Pesquisa e Desenvolvimento

### 3.1. Linhas de Pesquisa

Epidemiologia da Malária; Efeito do tratamento de portadores de infecção assintomática por plasmódio na transmissão de malária em Porto Velho – RO e Estudo de prevenção de recaídas para o controle da malária vivax.

### 3.2 Projetos

**Efeito do tratamento intermitente preventivo e seletivo na incidência da malária vivax em populações urbanas e rurais de Rondônia, Amazônia Ocidental.** No Brasil mais de 99% dos casos de malária estão concentrados na Região Amazônica. Nos últimos anos o número de casos diminuiu de aproximadamente 500.000 para menos de 300.000 casos. Para *malária falciparum*, os esforços de controle do Ministério da Saúde com a introdução de tratamentos baseados na combinação de artemisinina apresentam resultados significativos na redução da incidência, onde a porcentagem de malária clínica caiu de 26,5% em 2006 para 12,4% em 2011. Este sucesso foi obtido sem levar em consideração os portadores assintomáticos de Plasmodium (APC), encontrados frequentemente em áreas holoendêmicas da África e Papua Nova Guiné, mas raros na Região Amazônica. No entanto, estudos mais recentes têm mostrado a presença de APC em muitos locais da Amazônia brasileira. Estudos anteriores mostraram que a malária residual pode resistir à terapêutica convencional e aos instrumentos de controle do vetor em uso, demonstrando que a presença de APC, a ocorrência frequente de recidivas nos pacientes com malária vivax, e a intensa mobilidade das populações na Amazônia são importantes fatores para a manutenção e aumento da situação endêmica de malária na região. Frequências de 10 a 40% de APC foram encontradas entre os adultos residentes em diferentes áreas ribeirinhas no rio Madeira em Rondônia. Nessa área, a frequência de recaídas após tratamento completo com cloroquina e primaquina foi avaliada em 6,5% para o esquema longo com primaquina por 14 dias, e 26,7% para o curto período de 7 dias. Foram realizados ensaios na tentativa de interferir nesses fatores determinantes para avaliar o efeito do tratamento dos APC. No entanto, enquanto para os APC por *P. falciparum* o tratamento teve um efeito favorável na redução da incidência, o mesmo efeito positivo não foi obtido com o tratamento dos APC por *P. vivax*. O fracasso foi interpretado essencialmente devido as recaídas que ocorrem após o tratamento completo (cloroquina e primaquina), não só de pacientes sintomáticos, mas também os APC tratados, mostrando que a imunidade clínica observada para *P. vivax* na área não é espécie-específica, mas apenas variante-específica.

Inspirado pelo sucesso de recentes relatos com o tratamento intermitente preventivo (IPT) na redução de incidência da malária em crianças de Papua Nova Guiné (Senn et al. 2012), e em áreas de malária na África sub-Saariana, outro estudo se propôs analisar a introdução de procedimentos do IPT no controle da malária com a população das áreas ribeirinhas do rio Madeira, em Rondônia (dados em fase de preparação de artigo científico). Nestas áreas a malária *falciparum* tem reduzida para menos de 10% do total de casos, mas a malária *vivax* ainda persiste com valores significativos de prevalência (Ministério da Saúde 2012). No entanto, considerando ensaios anteriores em que a prevalência de APC por *P. vivax* chegou a 20% na área em questão, os autores decidiram associar um procedimento IPT adaptado, que foi denominado tratamento intermitente preventivo seletivo (SIPT). O SIPT foi aplicado após o tratamento completo e supervisionado de malária *vivax*, para os casos clínicos e APC para prevenir recorrências e recaídas. Os resultados mostraram redução a zero o número de recaídas, 6 meses após os APC e sintomáticos receberam o SIPT, e após 16 meses quando somente os sintomáticos receberam SIPT (artigo aceito para publicação). Concomitantemente, a significativa redução obtida na incidência da malária *vivax* com o novo procedimento reduziu consideravelmente o número de indivíduos que necessitaram receber antimaláricos para tratamento convencional. Além disso, a probabilidade do morador da área de estudo em adquirir malária reduziu para menos de 10%.

Buscando avaliar as concentrações de cloroquina oriundas desse procedimento inovador, o presente projeto também realizará a dosagem sérica de cloroquina nos indivíduos que receberem o SIPT. Avaliações de concentração de cloroquina sanguínea por bioensaio e HPLC mostraram boa correlação e não haver diferenças significativas. Contudo, a opção de adotarmos o HPLC se deve a disponibilidade do equipamento, metodologia simples fácil de usar, precisão e é adotado para análises de rotina e controle de qualidade. Essa metodologia também já foi padronizada em estudos conduzidos no Brasil para cloroquina, incluindo análises bioquímicas e hematológicas, e outros antimaláricos.

Assim sendo, o presente projeto tem por objetivos:

- a. Avaliar a prevalência de malária nas localidades de estudo;
- b. Identificar através de busca ativa e passiva, casos de malária vivax em localidades do município de Candeias do Jamari, Rondônia;
- c. Aplicar o tratamento intermitente preventivo seletivo em pacientes que receberam o tratamento completo para malária *vivax*;
- d. Quantificar os níveis séricos de cloroquina de pacientes que, após o tratamento completo e supervisionado para malária por *P. vivax*, receberam o tratamento intermitente preventivo seletivo para evitar recorrências nos dias D0, D1, D3, D7, D8, D29, D57, D85, D118, D144 e 264;
- e. Determinar o perfil hematológico dos pacientes que receberam o tratamento;
- f. Determinar a prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase;
- g. Avaliar a incidência de casos/100 pessoas-ano, antes e após a aplicação do tratamento intermitente preventivo seletivo nas áreas de estudo;
- h. Realizar levantamento da densidade vetorial de anofelinos, por espécie, com periodicidade mensal nas localidades de estudo;
- i. Treinar e qualificar os agentes de saúde e agentes de combate às endemias da Secretaria Municipal de Saúde local para desenvolver ações de busca ativa e aplicação de tratamento intermitente preventivo seletivo.

Responsáveis: Tony Hiroshi Katsuragawa e Ricardo de Godoi Mattos Ferreira. Área de conhecimento: Ciências da Saúde, Saúde Coletiva e Epidemiologia. Instituição de Fomento: Ministério da Saúde, SVS e FNS.

#### 4. Publicações

##### 4.1. Publicação mais importante no ano de 2013

- 01 COSTA, J. D. N. ; ZANCHI, F. B. ; RODRIGUES, F. L. S. ; HONDA, E. R. ; KATSURAGAWA, TONY HIROSCHI ; PEREIRA, D. B. ; TABORDA, R. L. M. ; TADA, M. S. ; FERREIRA, R. G. M. ; PEREIRA-DA-SILVA, L. H. . *Cross-reactive anti-PfCLAG9 antibodies in the sera of asymptomatic parasite carriers of Plasmodium vivax*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso), v. 108, p. 98-105, 2013.
- 02 GOMES, Luciano T. ; TADA, M. S. ; KATSURAGAWA, T. H. ; POVOA, M. M. ; VIANA, G. M. R. ; ALECRIM, M. G. C. ; SANTANA FILHO, F. S. ; ARCANJO, A. R. L. ; COUTO, V. S. C. D'A. ; COUTO, A. A. R. D'A. ; NERY, A. F. ; FONTES, C. J. F. . *Low sensitivity of malaria rapid diagnostic tests stored at room temperature in the Brazilian Amazon Region*. *Journal of Infection in Developing Countries* (Online), v. 7, p. 243-252, 2013.
- 03 Katsuragawa, Tony Hiroshi ; GIL, LUIZ HERMAN SOARES ; LIMA, ALZEMAR ALVES DE ; FREITAG, ELCI MARLEI ; SANTOS, TATIANA MARCONDES DOS ; NASCIMENTO FILHA, MARIA TEIXEIRA DO ; SANTOS JÚNIOR, ALCIDES PROCÓPIO JUSTINIANO DOS ; SILVA, JOSIANE MENDES DA ; RODRIGUES, ALINE DE FREITAS ; TADA, MAURO SHUGIRO ; FONTES, COR JESUS FERNANDES ; PEREIRA DA SILVA, LUIZ HILDEBRANDO . *Selective Intermittent Preventive Treatment of Vivax Malaria: Reduction of Malaria Incidence in an Open Cohort Study in Brazilian Amazon*. *Malaria Research and Treatment*, v. 2013, p. 1-11, 2013.
- 04 DA SILVA ARAÚJO, MAISA ; MESSIAS, MARILUCE R ; FIGUEIRÓ, MARIVALDO R ; GIL, LUIZ HERMAN ; PROBST, CHRISTIAN M ; DE MEDEIROS VIDAL, NEWTON ; KATSURAGAWA, TONY H ; KRIEGER, MARCO A ; PEREIRA DA SILVA, LUIZ H ; OZAKI, LUIZ S . *Natural Plasmodium infection in monkeys in the state of Rondonia (Brazilian Western Amazon)*. *Malaria Journal* (Online), v. 12, p. 180, 2013.
- 05 MEDEIROS, MÁRCIA M ; FOTORAN, WESLEY L ; DALLA MARTHA, ROSIMEIRE C ; KATSURAGAWA, TONY H ; PEREIRA DA SILVA, LUIZ HILDEBRANDO ; WUNDERLICH, GERHARD . *Natural antibody response to Plasmodium falciparum merozoite antigens MSP5, MSP9 and EBA175 is associated to clinical protection in the Brazilian Amazon*. *BMC Infectious Diseases* (Online), v. 13, p. 608, 2013.

##### 4.2. Artigos Publicados em Revistas Indexadas/DOI

- 01 COSTA, J. D. N. ; ZANCHI, F. B. ; RODRIGUES, F. L. S. ; HONDA, E. R. ; KATSURAGAWA, TONY HIROSCHI ; PEREIRA, D. B. ; TABORDA, R. L. M. ; TADA, M. S. ; FERREIRA, R. G. M. ; PEREIRA-DA-SILVA, L. H. . *Cross-reactive anti-PfCLAG9 antibodies in the sera of asymptomatic parasite carriers of Plasmodium vivax*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso), v. 108, p. 98-105, 2013.
- 02 GOMES, Luciano T. ; TADA, M. S. ; KATSURAGAWA, T. H. ; POVOA, M. M. ; VIANA, G. M. R. ; ALECRIM, M. G. C. ; SANTANA FILHO, F. S. ; ARCANJO, A. R. L. ; COUTO, V. S. C. D'A. ; COUTO, A. A. R. D'A. ; NERY, A. F. ; FONTES, C. J. F. . *Low sensitivity of malaria rapid diagnostic tests stored at room temperature in the Brazilian Amazon Region*. *Journal of Infection in Developing Countries* (Online), v. 7, p. 243-252, 2013.
- 03 Katsuragawa, Tony Hiroshi ; GIL, LUIZ HERMAN SOARES ; LIMA, ALZEMAR ALVES DE ; FREITAG, ELCI MARLEI ; SANTOS, TATIANA MARCONDES DOS ; NASCIMENTO FILHA, MARIA TEIXEIRA DO ; SANTOS JÚNIOR, ALCIDES PROCÓPIO JUSTINIANO DOS ; SILVA, JOSIANE MENDES DA ; RODRIGUES, ALINE DE FREITAS ; TADA, MAURO SHUGIRO ; FONTES, COR JESUS FERNANDES ; PEREIRA DA SILVA, LUIZ HILDEBRANDO . *Selective Intermittent Preventive Treatment of Vivax Malaria: Reduction of Malaria Incidence in an Open Cohort Study in Brazilian Amazon*. *Malaria Research and Treatment*, v. 2013, p. 1-11, 2013.
- 04 DA SILVA ARAÚJO, MAISA ; MESSIAS, MARILUCE R ; FIGUEIRÓ, MARIVALDO R ; GIL, LUIZ HERMAN ; PROBST, CHRISTIAN M ; DE MEDEIROS VIDAL, NEWTON ; KATSURAGAWA, TONY H ; KRIEGER, MARCO A ; PEREIRA DA SILVA, LUIZ H ; OZAKI, LUIZ S . *Natural Plasmodium infection in monkeys in the state of Rondonia (Brazilian Western Amazon)*. *Malaria Journal* (Online), v. 12, p. 180, 2013.
- 05 MEDEIROS, MÁRCIA M ; FOTORAN, WESLEY L ; DALLA MARTHA, ROSIMEIRE C ; KATSURAGAWA, TONY H ; PEREIRA DA SILVA, LUIZ HILDEBRANDO ; WUNDERLICH, GERHARD . *Natural antibody response to Plasmodium falciparum merozoite antigens MSP5, MSP9 and EBA175 is associated to clinical protection in the Brazilian Amazon*. *BMC Infectious Diseases* (Online), v. 13, p. 608, 2013.
- 06 TADA, M. S. (PGBIOEXP); FERREIRA, R. G. M. (PGBIOEXP); Katsuragawa, Tony Hiroshi (PGBIOEXP); DALLA-MARTHA, R. C. (PGBIOEXP); COSTA, J. D. N. (PGBIOEXP); ALBRECHT, L. (USP); WUNDERLICH, G. (USP); PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP). *Asymptomatic infection*

with *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in the Brazilian Amazon Basin: to treat or not to treat? Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso), v. 107, p. 621-629, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762012000500008>

- 07 PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP); KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); STABELI, R. G. (PGBIOEXP). *Ciencia, tecnología e innovación para la Amazonía brasileña: cuestionando las bases del modelo actual de desarrollo. Interciencia* (Caracas), v. 36, p. 716-720, 2011.
- 08 KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); GIL, L. H. S. (PGBIOEXP); TADA, M. S. (PGBIOEXP); SILVA, A. A. E. (PGBIOEXP); COSTA, J. D. N. (PGBIOEXP); ARAUJO, Maísa da Silva (PGBIOEXP); ESCOBAR, A. L. (PGBIOEXP); PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP). *The Dynamics of Transmission and Spatial Distribution of Malaria in Riverside Areas of Porto Velho, Rondônia, in the Amazon Region of Brazil. Plos One*, v. 5, p. e9245, 2010. doi:10.1371/journal.pone.0009245
- 09 KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); CUNHA, R. P. A. (PGBIOEXP); VILLALOBOS-SALCEDO, J. M. (PGBIOEXP); SOUZA, D. C. A. (PGBIOEXP); OLIVEIRA, K. R. V. (PGBIOEXP); GIL, L. H. S. (PGBIOEXP); BATISTA, D. P. (PGBIOEXP); TADA, M. S. (PGBIOEXP); PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP). Alta soroprevalência de infecção pelos vírus das hepatites B e C na região do alto rio Madeira, Porto Velho, Rondônia, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 1(2), p. 91-96, 2010. <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000200011>
- 10 KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); CUNHA, R. P. A.; SOUZA, D. C. A. (PGBIOEXP); GIL, L. H. S.; CRUZ, R. B. M.; SILVA, A. A. E. (PGBIOEXP); TADA, M. S. (PGBIOEXP); PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP). Malária e aspectos hematológicos em moradores da área de influência dos futuros reservatórios das hidrelétricas de Santo Antônio e Jirau, Rondônia, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* (FIOCRUZ), v. 25(7), p. 1486-1492, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2009000700006>
- 11 CRUZ, R. B. M.; GIL, L. H. S.; SILVA, A. A. E. (PGBIOEXP); ARAUJO, Maísa da Silva (PGBIOEXP); KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP). *Mosquito abundance and behavior in the influence area of the hydroelectric complex on the Madeira River, Western Amazon, Brazil. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 103, p. 1174-1176, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.09.007>
- 12 GIL, L. H. S.; ARAUJO, Maísa da Silva (PGBIOEXP); VILLALOBOS-SALCEDO, J. M. (PGBIOEXP); CAMARGO, L. M. A. (USP); OZAKI, L. S. (VCU); FONTES, C. J. F. (UFMT); RIBOLLA, P. E. M. (UNESP); KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); CRUZ, R. B. M.; SILVA, A. A. E. (PGBIOEXP); PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP). *Species structure of sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna in the Brazilian western Amazon. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (Impresso), v. 104, p. 955-959, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762009000700002>
- 13 KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); GIL, L. H. S.; TADA, M. S. (PGBIOEXP); PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP). Endemias e epidemias na Amazônia. Malária e doenças emergentes em áreas ribeirinhas do Rio Madeira. Um caso de escola. *Estudos Avançados*, v. 22(64), p. 111-141, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142008000300008>
- 14 TADA, M. S. (PGBIOEXP); MESQUITA, E. A. (PGBIOEXP); DALLA-MARTHA, R. C. (PGBIOEXP); PEPELASCOV, R. M. R. R. (PGBIOEXP); KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP). *Urban malaria in the Brazilian Western Amazon Region I. High prevalence of asymptomatic carriers in an urban riverside district is associated with a high level of clinical malaria. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 102(3), p. 263-269, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762007005000012>
- 15 GIL, L. H. S.; TADA, M. S. (PGBIOEXP); KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); RIBOLLA, P. E. M. (UNESP); PEREIRA-DA-SILVA, L. H. (PGBIOEXP). *Urban and suburban malaria in Rondônia (Brazilian Western Amazon) II: perennial transmissions with high anopheline densities are associated with human environmental changes. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (Impresso), v. 102, p. 271-276, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762007005000013>
- 16 KATSURAGAWA, T. H. (PGBIOEXP); GIL, L. H. S.; STABELI, R. G. (PGBIOEXP); PIRES, M. G. (PGBIOEXP); BONINI-DOMINGOS, C. R. (UNESP). Avaliação da incidência da deficiência de Glicose-6-Fosfato Desidrogenase (G6PD) e perfil hematológico em indivíduos de uma região de Rondônia. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, Rio de Janeiro, v. 26(4), n.04, p. 268-273, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842004000400007>
- 17 KLEIN, T. A.; TADA, M. S.; LIMA, J. B. P.; KATSURAGAWA, T. H. Infection of *Anopheles darlingi* fed on patients infected with *Plasmodium vivax* before and during treatment with chloroquine in Costa Marques, Rondonia, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Estado Unidos da América, v. 45(4), n.4, p. 471-478, 1991.

#### 4.3. Resumos

- 01 ARAUJO, Maísa da Silva ; SOARES, W. P. ; COSTA, J. D. N. ; GIL, L. H. S. ; KATSURAGAWA, T. H. ; OZAKI, L. S. ; PEREIRA-DA-SILVA, L. H. . Infecção Natural do Principal Vetor da Malária Humana, *Anopheles darlingi* em Área Endêmica de Porto Velho - Rondônia. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia - III Congresso de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis. XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia - III Congresso de Parasitologia do Mercosul, 2013.

- 02 GIL, L. H. S. ; MELO, P. P. A. C. ; SOARES, W. P. ; SILVA, C. L. A. ; SIMPLICIO, M. F. ; KATSURAGAWA, T. H. ; PEREIRA-DA-SILVA, L. H. . Levantamento de Triatomíneos em Palmeiras de Áreas Peridomiciliar, em Cinco Municípios do Estado de Rondônia. In: XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia - III Congresso de Parasitologia do Mercosul, 2013, Florianópolis. XXIII Congresso Brasileiro de Parasitologia - III Congresso de Parasitologia do Mercosul, 2013.
- 03 AGUIAR, A. C. C. ; NEUENFELDT, P. D. ; KATSURAGAWA, T. H. ; DRAWANZ, B. B. ; CUNICO, W. ; SINNIS, P. ; ZAVALA, F. ; KRETTLI, A. U. . Primaquine (PQ) Thiazolidinone derivatives, less hemolytic than PQ against erythrocytes deficient in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and inhibit the development of Plasmodium berghei exoerythrocytic forms. In: XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013, Manaus. XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013.
- 04 SANTOS JÚNIOR, ALCIDES PROCÓPIO JUSTINIANO DOS ; NASCIMENTO FILHA, M. T. ; SANTOS, T. M. ; COSTA, J. D. N. ; LIMA, A. A. ; SILVA, J. M. ; TADA, M. S. ; GIL, L. H. S. ; KATSURAGAWA, T. H. ; GOMES, Luciano T. ; FONTES, C. J. F. . Avaliação de concordância de um teste rápido para o diagnóstico da malária. In: XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013, Manaus. XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013.
- 05 ANGELO, J. R. ; KATSURAGAWA, T. H. ; LIMA, A. A. ; PEREIRA-DA-SILVA, L. H. ; NOBRE, C. A. . Expansão urbana e ocorrência da malária na área urbana de Porto Velho (Rondônia). In: XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013, Manaus. XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013.
- 06 SILVA, J. M. ; NASCIMENTO FILHA, M. T. ; SANTOS, A. P. J. ; SANTOS, T. M. ; COSTA, J. D. N. ; ARAUJO, Máisa da Silva ; LIMA, A. A. ; GIL, L. H. S. ; KATSURAGAWA, T. H. ; GOMES, Luciano T. ; FONTES, C. J. F. ; TADA, M. S. . Prevalência de casos de infecção por Plasmodium malariae em comunidades ribeirinhas do rio Madeira de Porto Velho (Rondônia). In: XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013, Manaus. XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013.
- 07 LIMA, A. A. ; NASCIMENTO FILHA, M. T. ; SANTOS, A. P. J. ; SANTOS, T. M. ; SILVA, J. M. ; GIL, L. H. S. ; ANGELO, J. R. ; KATSURAGAWA, T. H. . Análise espacial de casos de malária no município de Porto Velho (RO) entre 2008 a 2012. In: XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013, Manaus. XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013.
- 08 NASCIMENTO FILHA, M. T. ; LIMA, A. A. ; TADA, M. S. ; PEREIRA-DA-SILVA, L. H. ; GIL, L. H. S. ; KATSURAGAWA, T. H. . Mapeamento dos casos de malária no município de Candeias do Jamari: Análise espacial de localidades urbanas e rurais. In: XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013, Manaus. XIII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2013.

### 5.1. Orientações em Andamento

a) Nível: mestrado; b) Área do Conhecimento: Parasitologia; c) Título: Estudo comparativo de três métodos de diagnóstico da malária: avaliação da sensibilidade, especificidade e custo benefício; d) Nome do Discente: Alcides Procópio Justiniano dos Santos Junior; e) Área de Concentração conforme tabela de áreas de concentração/projetos/linhas de pesquisa: Epidemiologia; f) Linha de pesquisa conforme tabela de áreas de concentração/projetos/linhas de pesquisa: Epidemiologia da Malária; g) Projeto de vínculo: Efeito do tratamento intermitente preventivo e seletivo na incidência da malária vivax em populações urbanas e rurais de Rondônia, Amazônia Ocidental.

a) Nível: mestrado; b) Área do Conhecimento: Parasitologia; c) Título: Análise da infecção de glândulas salivares e estômagos de *Anopheles darlingi* alimentados com sangue humano contendo *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*; d) Nome do Discente: Jeane Maia Zeferino; e) Área de Concentração conforme tabela de áreas de concentração/projetos/linhas de pesquisa: Entomologia; f) Linha de pesquisa conforme tabela de áreas de concentração/projetos/linhas de pesquisa: Epidemiologia da Malária; g) Projeto de vínculo: Efeito do tratamento intermitente preventivo e seletivo na incidência da malária vivax em populações urbanas e rurais de Rondônia, Amazônia Ocidental.

a) Nível: mestrado; b) Área do Conhecimento: Parasitologia; c) Título: Análise espacial e epidemiológica da malária no município de Candeias do Jamari no estado de Rondônia; d) Nome do Discente: Maria Teixeira do Nascimento Filha; e) Área de Concentração conforme tabela de áreas de concentração/projetos/linhas de pesquisa: Epidemiologia; f) Linha de pesquisa conforme tabela de áreas de concentração/projetos/linhas de pesquisa: Epidemiologia da Malária; g) Projeto de vínculo: Efeito do tratamento intermitente preventivo e seletivo na incidência da malária vivax em populações urbanas e rurais de Rondônia, Amazônia Ocidental.

# GESTÃO DA QUALIDADE DOS LABORATÓRIOS

## 1.1. Gerente da Qualidade

Felipe Weissaupt Stegun  
<http://lattes.cnpq.br/4790884043171293>

## 1.2. Colaborações Nacionais

Mirian Cohen - Coordenação da Qualidade Fiocruz  
Secretaria Executiva do Comitê Gestor da Qualidade – Fiocruz  
Vice-presidência de Gestão e Desenvolvimento Institucional  
Fundação Oswaldo Cruz



## 1.3. Área de Atuação

Dando prosseguimento às ações de disseminação da Cultura da Excelência na Fiocruz, em conformidade com o Macroprojeto Excelência Operacional do PQ Fiocruz 2011-2014 e atendendo às diretrizes do Plano de Capacitação e desenvolvimento gerencial em Gestão da Qualidade a Fiocruz Rondônia adotou uma série de novos projetos com base nas Boas Práticas de Laboratório (BPL), além de revisar e reestruturar os projetos já existentes.

A Gestão da Qualidade visa a melhoria contínua dos processos e serviços do instituto, iniciou suas ações nos laboratórios centrais do instituto e desenvolveu uma série de ações voltadas para a adequação dos laboratórios com base na legislação atual, nas normas ISO, nas Resoluções de Diretoria Colegiada (RDC), nas Normas Brasileiras (ABNT-NBR), nas Normas Regulamentadoras (NR) entre outras orientações como as Boas Práticas Laboratoriais e resoluções de Biossegurança.

### Projeto em andamento:

#### **Vistorias da Qualidade nos Laboratórios Centrais**

Responsável: Felipe Weissaupt Stegun. Início: 2º. Semestre de 2012. Término: projeto contínuo. Área de Conhecimento: Gestão da Qualidade.

Descrição: Estabelecer rotinas de vistorias e auditorias internas e externas para levantamento do relatório diagnóstico da situação dos laboratórios do instituto com base nas legislações e resoluções vigentes, sempre visando a melhoria contínua dos processos e serviços.

#### **Implantação da Gestão da Qualidade nos Laboratórios Associados (CEPEM, CEBIO, LABEIN)**

Responsável: Felipe Weissaupt Stegun. Início: 2º. Semestre de 2014. Término: projeto contínuo. Área de Conhecimento: Gestão da Qualidade.

Descrição: Implantar os conceitos da qualidade nos processos e produtos dos laboratórios de pesquisa com base nas normas da família ISO 9000, ISO 15189, ISO14000 e ISO 31000; considerando também as resoluções RDC, NBR e NR pertinentes aos laboratórios, estabelecendo requisitos para a melhoria contínua dos processos críticos à rotina dos laboratórios, implantando registros e rotinas da qualidade que garantam a rastreabilidade e a reprodutibilidade das pesquisas.

#### **Estabelecimento do Programa de Gerenciamento de Resíduos em Serviços de Saúde (PGRSS)**

Responsável: Felipe Weissaupt Stegun. Início: 2º. Semestre de 2012. Término: projeto contínuo. Área de Conhecimento: Gestão da Qualidade.

Descrição: Organizar e estabelecer rotinas segregação, transporte, acondicionamento, identificação, descarte e disposição final de todos os resíduos gerados no instituto.

#### **Organização do Setor de Material e Patrimônio**

Responsável: Felipe Weissaupt Stegun. Início: 2º. Semestre de 2013. Término: projeto contínuo. Área de Conhecimento: Gestão da Qualidade.

Descrição: Inventariar os materiais permanentes e de consumo do instituto, através de rotina trimestral de conferência. Implantação dos registros de controle de qualidade e rastreabilidade dos materiais.

#### **Fiscalização da Rotina de Manutenção Preventiva e Corretiva dos Equipamentos Laboratoriais.**

Responsável: Felipe Weissaupt Stegun. Início: 2º. Semestre de 2013. Término: projeto contínuo. Área de Conhecimento: Gestão da Qualidade.

Descrição: Fiscalizar a rotina de manutenção corretiva e preventiva de equipamentos laboratoriais realizados no instituto por empresa terceirizada.

### **Elaboração dos Documentos para Criação da Rede Fiocruz de Biobancos (RFBB)**

Responsável: VPPLR. Início: 2º. Semestre de 2013. Término: 1º. Semestre de 2015. Área de Conhecimento: Gestão de Amostras Biológicas Humanas.

Descrição: Elaboração dos documentos para Criação e Estruturação da RFBB dentro da legislação de Gestão de Amostras Biológicas Humanas e Ética em Pesquisa Clínica em consonância com as necessidades da Fiocruz.

### **Projetos Encerrados:**

#### **Revisão da Carta de Serviço ao Cidadão – Fundação Oswaldo Cruz**

Responsável: Felipe Weissaupt Stegun. Início: 1º. Semestre de 2013. Término: 2º. Semestre de 2013. Área de Conhecimento: Gestão da Qualidade.

Descrição: Participação na elaboração da Carta de Serviços ao Cidadão de acordo com o Decreto nº 6.932/2009 que dispõe sobre a simplificação do atendimento público, com responsabilidades sobre a descrição da Unidade Fiocruz Rondônia.

#### **Levantamento da Situação da Gestão da Qualidade nas Unidades da Fiocruz**

Responsável: Felipe Weissaupt Stegun. Vigência: 2º. Semestre de 2012. Concluído. Área de Conhecimento: Gestão da Qualidade.

Descrição: Obtenção de informações sobre a implementação dos Sistemas de Gestão da Qualidade nas Unidades, a fim de identificar os aspectos em que é necessária ação corporativa para consolidação e melhoria contínua dos processos.

### **Projetos Futuros:**

#### **Implantação da Gestão da Qualidade no Sistema de Gestão Institucional da Fiocruz Rondônia**

Responsável: Felipe Weissaupt Stegun. Início: 2º. Semestre de 2013. Término: projeto contínuo. Em fase de planejamento. Área de Conhecimento: Gestão da Qualidade.

Descrição: Seguindo o compromisso da Gestão da Qualidade com a melhoria contínua do instituto e dando seguimento ao Macroprojeto Excelência Operacional do PQ Fiocruz 2011-2014 a Gestão da Qualidade tem como objetivo futuro a extensão das ações para todos processos de gestão institucional.

# PLATAFORMA DE CRIAÇÃO E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL



Foto: Alexandre Almeida/Fiocruz Rondônia

## 1. RECURSOS HUMANOS

### 1.1. Responsável Técnico

André de Abreu Rangel Aguirre  
CRMV/RO 1305 - SIAPE 2175224  
<http://lattes.cnpq.br/0562440137777560>



**PCEA**  
Plataforma de Criação e  
Experimentação Animal

### 1.2 Equipe

Erivaldo Campos Monteiro (Técnico tratador de animais)  
Elizer de Azevedo (Técnico de biotério)  
Luânderson de Oliveira Pinheiro (Técnico de biotério).

## 2. BALANÇO DO ANO DE 2014

O conjunto de biotérios da Fiocruz Rondônia recebe denominação de Plataforma de Criação e Experimentação Animal (PCEA). É uma plataforma de apoio com objetivo de fornecer animais e produtos biológicos, abastecendo às demandas das atividades de pesquisas desenvolvidas pelos Laboratórios da Instituição.

A PCEA atualmente possui sob seus cuidados duas espécies de animais: camundongos (*Mus musculus*) de linhagens inbred (BALB/c) e outbred (Swiss); e lhamas (*Lama glama*).

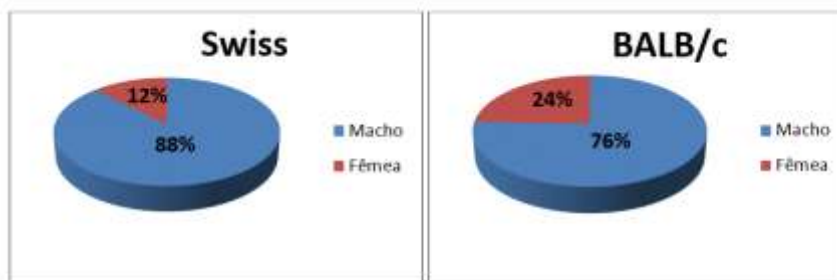
A estrutura conta com um biotério de criação, onde são mantidas colônias de camundongos Piloto, Expansão (somente BALB/c) e Produção, um biotério de experimentação, onde são mantidos os camundongos submetidos aos projetos de pesquisa, e um biotério de manutenção, que contém uma sala para manutenção de coelhos (quando necessário) e um curral para lhamas, na área externa da instituição. Além dessas estruturas, a PCEA também conta com uma sala de lavagem, destinada à limpeza dos materiais e autoclavagem dos insumos para os camundongos, e uma sala de estoque de materiais e insumos para todos os animais.

Os laboratórios com os quais a PCEA comumente colabora são: Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde (CEBio); Físio, Imunopatologia e Quimioterapia da Malária; Biotecnologia Aplicada à Saúde; Engenharia de Anticorpos; Entomologia; Imunologia Celular Aplicada à Saúde; Neuropsicofarmacologia e Análise Etoexperimental do Comportamento. Além do atendimento às solicitações desses laboratórios, também presta serviço, quando disponível, de doação de animais inservíveis para alimentação de serpentes.

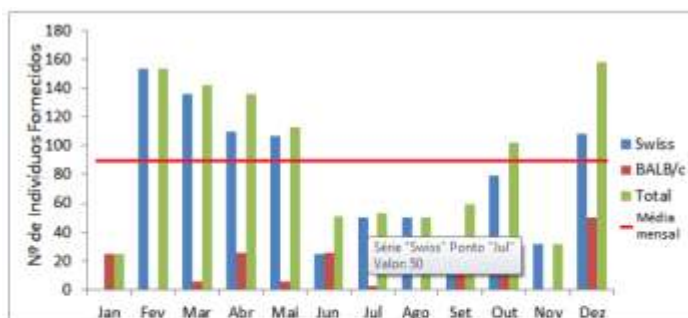
Em 2014 algumas medidas foram tomadas com fins de redução do desperdício de animais, visando o princípio dos 3Rs (substituição, redução e refinamento, em português), como a adoção da sexagem dos animais ao nascer. Essa medida foi adotada com base no baixo índice de solicitação de fêmeas para ambas as linhagens pelos laboratórios da instituição, como mostrado abaixo na figura 1. Desta forma, as fêmeas neonatas são descartadas, semanalmente, durante a rotina de vistoria veterinária no manejo de contagem de nascimentos e desmame das ninhadas. Só são mantidas as fêmeas em quantidade suficiente para atender à demanda dos laboratórios.



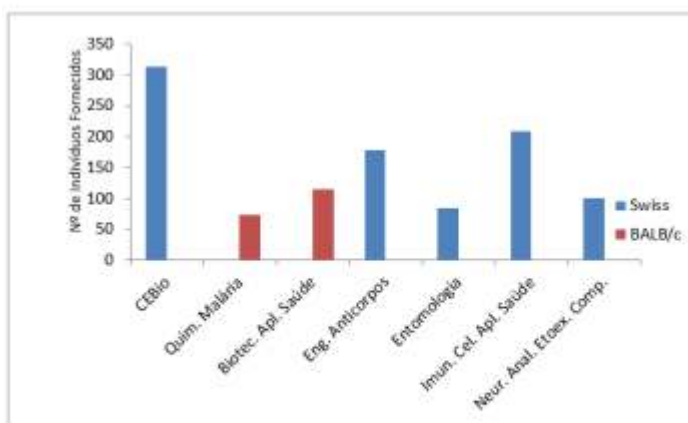
## 2.1. Relatório de Dados



**Figura 1:** Relação de pedidos de camundongos (*Mus musculus*) atendidos por linhagem em função do sexo dos animais.



**Figura 2:** Relação de pedidos camundongos (*Mus musculus*) atendidos por mês em função da linhagem.



**Figura 3:** Relação de pedidos camundongos (*Mus musculus*) atendidos por Laboratório/Departamento da Fiocruz Rondônia em função da linhagem.

## 3. BALANÇO DO ANO DE 2013

Em 2012 o Biotério da Fiocruz Rondônia passou por uma série de modificações tanto estruturais quanto administrativas, dentre elas a troca de chefia, reestruturação da rotina de trabalho e adequação das técnicas de produção e manutenção de animais.

O conjunto de biotérios da Fiocruz Rondônia recebeu nova nomenclatura de Plataforma de Criação e Experimentação de Animais – PCEA deixando de ser um setor e passando a ser uma plataforma de solicitação de animais e produtos biológicos que tem como objetivo dar suporte às atividades de pesquisa desenvolvidas pelos Laboratórios da Instituição.

A PCEA possui sob seus cuidados as seguintes espécies animais: Camundongos *Mus musculus*, das linhagens Swiss (colônias outbred) e Balb/C (colônias inbred); e Camelídeos, Alpaca *Vicugna pacos* e Lhama *Lama glama*.

Em 2012 a linhagem Swiss (que apresentava 5 grupos originais de matrizes), recebeu, através de logística de cruzamentos um sexto grupo a fim de permitir a heterogenia dessa linhagem, e criou-se as Colônias Piloto e de Produção para aumentar a produtividade de camundongos Swiss destinados a pesquisa. Com essa melhoria do sistema de acasalamento e a implantação de duas colônias verificou-se aumento significativo dos nascimentos.

Atualmente são destinadas duas salas para manutenção de camundongos Swiss, uma para criação, onde ficam as Colônias Piloto e Produção, e outra para experimentação, onde são mantidos os camundongos já destinados

aos projetos de pesquisa.

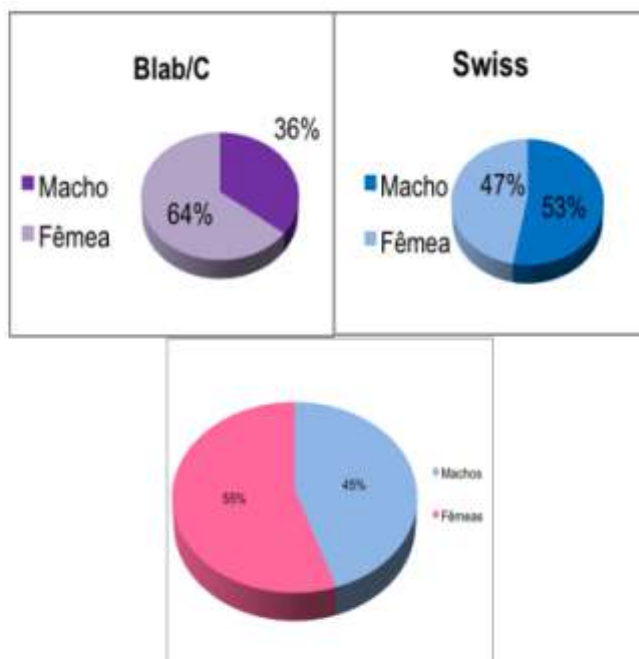
A forma de acasalamentos da linhagem Balb/C teve de ser adequada para garantir a integridade genética dos animais, com isso obteve-se um menor número de filhotes por parto o que é padrão determinado para linhagens isogênicas. Além da adequação ao sistema de acasalamento para animais isogênicos, a linhagem Balb/C foi dividida em duas colônias, a Colônia Piloto, com acasalamentos destinados à produção de novas matrizes e a Colônia Expansão com acasalamentos destinados a produção de animais para pesquisa.

A criação da linhagem de camundongos Balb/C é mantida em sala conjunta com a dos camundongos Swiss e nela é feita a contenção das Colônias Piloto e Expansão e os estoques de filhotes desmamados das mesmas, além dos camundongos já destinados aos pesquisadores.

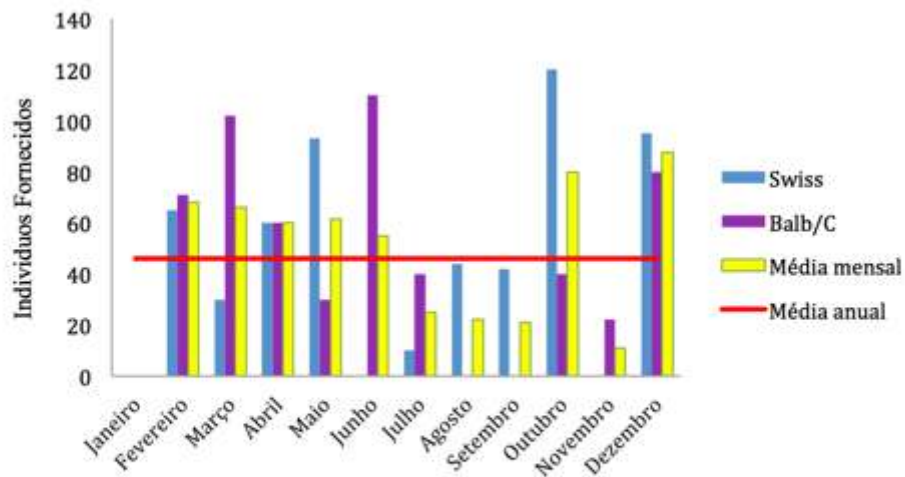
Vários dos projetos de pesquisa desenvolvidos na Fiocruz Rondônia carecem de experimentação em camundongos, coelhos e camelídeos, para suprir e sistematizar esta demanda a PCEA elaborou um sistema de requisição de animais e cronograma de retirada de animais e de sangrias.

Além das salas destinadas aos camundongos, a PCEA mantém sob seus cuidados, uma sala de lavagem para a limpeza das caixas dos camundongos, uma sala de estoque de materiais e um piquete de manutenção para os camelídeos.

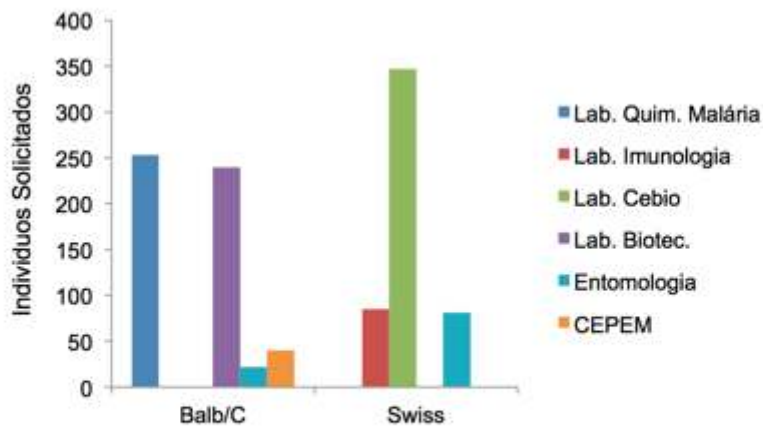
Os Laboratórios com os quais a PCEA comumente colabora são Quimioterapia de Malária e Leishmania, Imunologia e Cultura Celular, Biologia Molecular, PhageDisplay, Entomologia, CEBio e CEPem. Além do atendimento às solicitações desses laboratórios a PCEA também doou animais inservíveis para pesquisa para a alimentação de serpentes.



Distribuição anual de pedidos atendidos de camundongos *Mus musculus*. Linhagens Swiss e Balb/C em 2013. (Relação Machos/Fêmeas).



Distribuição anual de pedidos atendidos de camundongos *Mus musculus*. Linhagens *Swiss* e *Balb/C* em 2013.



Animais solicitados à PCEA pelos diversos Laboratórios da Fiocruz Rondônia em 2013.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ Rondônia**

Fundação Oswaldo Cruz

## **Programa e Resumos**

**I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia**

**&**

**II Encontro de Pós-Graduação em Saúde de Rondônia**

Fiocruz Rondônia  
Porto Velho, RO  
22 e 25 de outubro/2013

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA  
EXPERIMENTAL - PGBIOEXP**



**I SIMPÓSIO DE  
NANOBIOTECNOLOGIA  
DE RONDÔNIA**

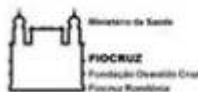
**II ENCONTRO DE  
PÓS-GRADUAÇÃO  
EM SAÚDE DE RONDÔNIA**

**Período: 22 a 25 de outubro  
Local do Evento: Accordes Hotel**

**Público-Alvo: profissionais, pós-graduandos e  
graduandos da Área de Saúde, Biologia e afins**

**Inscrições on-line:  
20/09 a 13/10/2013**

Realização:



**Informações:  
Telefone: (69) 3219-6003  
E-mail: [ensino@fiocruz.br](mailto:ensino@fiocruz.br)  
[www.rondonia.fiocruz.br](http://www.rondonia.fiocruz.br)**

# PROGRAMAÇÃO

22 de outubro (terça-feira)

## ABERTURA

19h  
Cerimônia de Abertura

23 de outubro (quarta-feira)

## Seção 1 - Isolamento e Caracterização de Produtos Não Protéicos Bioativos de Plantas: Bioorgânica e Fitoquímica

8h30min - Tema: Produtos naturais como estratégia para inibir a adesão bacteriana e formação de biofilmes patogênicos;

Palestrante: Alexandre José Macedo (UFRGS)

9h - Tema: Potencial antifúngico de moléculas de origem natural e sintético: utilização perspectivas biotecnológicas;

Palestrante: André Lopes Fuly (UFF)

10h - Tema: Potencial Biotecnológico e caracterização neurobiológica de alcalóides isolados da planta *Erythrina mulungu mart.* Ex benth;

Palestrante: Rene de Oliveira Belebani (UNAERP)

10h30min - Tema: Isolamento e caracterização de produtos não protéicos bioativos de plantas: bioorgânica e fitoquímica.

Palestrante: Valdir Alves Facundo (UNIR)

## Seção 2 - Interação de Moléculas com Modelos de Membrana e Isolamento e Caracterização Físico-Química de Biomoléculas Relevantes de Parasitas

14h30min - Tema: Interação de actinoporinas com membranas modelo;

Palestrante: Rosângela Itri (USP)

15h - Tema: Bacteriófagos como ferramentas para o bloqueio do desenvolvimento e consequente transmissão de patógenos por inseto vetores;

Palestrante: Luiz Shozo Osaki (Virginia Commonwealth University, USA)

16h - Tema: *Evaluation and modeling of proton and water exchange associated with benzamidine and berenilbinding to B-Trypsin;*

Palestrante: Marcelo Santoro (UFMG)

16h30min - Manipulação do sistema imune do vetor da malária, *Anopheles darlingi*, para o bloqueio da transmissão por *Plasmodium vivax* usando RNAi; desafios e perspectivas

Palestrante: Alexandre de Almeida e Silva (UNIR-Fiocruz Rondônia)

24 de outubro (quinta-feira)

## Seção 3 - Isolamento e Caracterização de Proteínas e Peptídeos de Venenos Animais com Foco no Desenvolvimento de Imunobiológicos

8h30min - Tema: Medicina translacional: prospectando moléculas candidatas e propondo ensaios clínicos;

Palestrante: Benedito Barraviera (UNESP)

9h - Tema: Identificação, síntese e caracterização de peptídeos antigênicos de venenos aracnídeo. Produção de anti-venenos vacinas e terapêuticos baseados em moléculas sintéticas;

Palestrante: Carlos Chaves - Olortegui (UFMG)

24 de outubro (quinta-feira)

10h - Tema: Relação estrutura-função do peptídeo paulistina: uma nova toxina do veneno da vespa social *Polybia paulista*

Palestrante: Paulo César Gomes (UNESP)

10h30min - Tema: Ensaio clínico com o antivienoapílico: um novo soro heterólogo específico para múltiplas picadas de abelhas africanizadas;

Palestrante: Rui Seabra Jr (UNESP)

11h - Tema: Alérgenos recombinantes para o diagnóstico e imunoterapia contra alergia ao veneno de Hymenoptera sociais;

Palestrante: Márcia Regina Brochetto Braga (UNESP)

14h30min - Tema: Quando cremos cambia: el caso de *Crotalus simus*;

Palestrante: Aarón Gómez Argüello (Universidad Costa Rica, UCR)

15h - Tema: Nanocorpos de camelídeos como estratégia alternativa para o tratamento de envenenamento ofídico;

Palestrante: Carla F. Fernandes (Fiocruz Rondônia)

16h - Tema: Aplicação do proteoma de alto rendimento como ferramenta de investigação de novos peptídeos de venenos animais: uso de secreção de cnidários como modelo;

Palestrante: Juliana Silva Cassoli (UFMG)

16h30min - Tema: Banco de Venenos Animais. Desafios, oportunidades e perspectivas frente a regulamentação de acesso;

Palestrante: Leonardo Calderon (UNIR-Fiocruz Rondônia)

25 de outubro (sexta-feira)

## Seção 5 - Montagem de sistemas nanobiomiméticos (lipossomas, proteolipossomas) para maximizar efeitos imunomoduladores ou vacinais, dispersão controladas de drogas: Nanobiotecnologia e Biotecnologia

8h30min - Pietro Ciancaglini (USP)

Tema: Nanobiotecnologia aplicada: uso de proteolipossomas

9h - Anselmo Fortunato Ruiz (UFAC)

Tema: Desenvolvimento de medicamentos baseados em nanotecnologia

10h - Gerhard Wunderlich (USP) - Tema: *Nanoparticle carrying merozoite antigens against blood stage forms of P. falciparum and P. yoeli*

10h30min - Tema: Encapsulação de extratos padronizados e seu efeito na atividade larvívora sobre *Aedes aegypti*

Palestrante: Luiz Alberto Kanis (UNISUL)

11h - Tema: Aplicação de lipossomas e partículas poliméricas na terapia alternativa contra leishmaniose cutânea

Palestrante: Roberto Nicolete (Fiocruz Rondônia)

14h30min - Apresentação Painel e/ou Oral 2º

Encontro de Pós-Graduação em Saúde

## RESUMOS PALESTRANTES

- R01 -

### **MALARIA: NANOTECNOLOGIA, CIÊNCIA BÁSICA E VACINAS**

LUIZ HILDEBRANDO PEREIRADA SILVA

Fiocruz Rondônia, Porto Velho-RO.

Entre 1967 e 1980 os pesquisadores brasileiros Ruth e Victor Nussenzweig trabalhando na NYU, obtiveram sucesso na vacinação de camundongos contra a malária de roedores usando esporozoítas irradiados e em seguida isolaram anticorpos monoclonais que identificaram a proteína CSP (*circum sporozoite protein*) com comprovada atividade de proteção passiva contra malária de roedores e foi considerada a proteína vacinal. A CSP recombinante de *Plasmodium falciparum* ou peptídeos derivados da mesma, entretanto, em ensaios vacinais forneceram resultados medíocres, mesmo com a última geração denominada RTS,S (Agnandji ST et al. N Engl J Med. 2012; 367(24):2284-95). Numerosas outras proteínas recombinantes, isoladas ou associadas correspondendo a antígenos do parasita da formas de esporozoítas atenuados ou do ciclo sanguíneo do parasita foram igualmente produzidas em numerosos laboratórios e ensaios de vacinação mostraram igualmente resultados decepcionantes. A revista Science publicou recentemente resultados de vacina proposta por Hoffman e colaboradores (Sedders et al, Science 2013; 341(6152):1359-65) utilizando esporozoítas atenuados injetados por via endo-venosa voltando atrás 40 anos (modelo Nussenzweig 1967) nas metodologias propostas para o desenvolvimento de vacinas. A própria revista Science classificou estas propostas de quixotescas (Kaiser, Science vol 341, 09/08/2013). A título de reflexão científica como exemplo iremos analisar as conseqüências operacionais de vacinação se adotarmos essas metodologias. Por outro lado, iremos especular sobre a importância das perspectivas de metodologias nano-tecnológicas para resolver impasses de problemas de conhecimento científico básico e tecnológico para permitir progressos reais em vacinas.

- R02 -

### **NANOBIOTECNOLOGIA APLICADA: USO DE PROTEOLIPOSSOMOS**

PIETRO CIANCAGLINI<sup>1</sup>; RODRIGO G. STABELI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Depto. Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil. E-mail: [pietro@ffclrp.usp.br](mailto:pietro@ffclrp.usp.br)

<sup>2</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde, Fiocruz Rondônia e Depto. Medicina da Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, RO, Brasil.

Proteolipossomos são sistemas que mimetizam as membranas lipídicas onde proteínas podem ser reinserida na dupla camada. Durante a última década, esses sistemas ganharam destaque como ferramenta para estudos biofísicos da interação de proteínas, bem como para as suas aplicações nanobiotecnológicas. Proteolipossomos têm uma grande vantagem quando comparados com sistemas de membranas naturais, uma vez que pode ser obtido com um menor número de componentes tanto lipídico (e de proteínas), o que facilita a sua produção bem como a interpretação de resultados obtidos [Ciancaglini et al. Biophys Rev. 2012(4);67-81]. A obtenção de um extrato bruto de proteínas solubilizadas com detergente de membrana plasmática de amastigotas de *L. amazonensis* foi reconstituída em lipossomos pelo método de co-solubilização. A incorporação de múltiplas proteínas de parasitas resulta num diâmetro vesicular de proteolipossomos de cerca de 140 nm, com uma razão lipídico final de Dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) :Dipalmitoilfosfatidilserina (DPPS) :colesterol de 1:1:5 (p/p) com alta estabilidade. Ratos BALB/c inoculados com estes proteolipossomos foram capazes de produzir anticorpos contra proteínas reconstituídas e foram parcialmente resistentes a infecção com promastigotos de *L. amazonensis*. Estes resultados indicam que este sistema pode ser usado como uma possível vacina contra *L. amazonensis*. Além disso, estes sistemas de proteolipossomos podem ser usados na fabricação de um sistema biosensor de baixo custo, feito com filmes nano-estruturados pela técnica *Layer-by-Layer*. Estes sensores, empregando espectroscopia de impedância como método de detecção, mostraram seletividade sem precedentes pelo reconhecimento molecular antígeno-anticorpo inerentes à detecção com os antígenos imobilizados. Foi possível a distinção entre amostras reais para doença de chagas e leishmaniose. A distinção pode ser feita com amostra de soro de sangue contendo 10-5 mg/mL da solução de anticorpos em poucos minutos. Atualmente estamos desenvolvendo o sensor para malária, seguindo a mesma metodologia.

Palavras-chave: proteolipossomos, vacina, nanosensor, nanobiotecnologia,  
Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPESP.

**-R03 -**

**NANOPARTICLES LOADED WITH PLASMODIUM MEROZOITE-DERIVED PROTEINS ARE HIGHLY IMMUNOGENIC AND PRODUCE INVASION-INHIBITING AND ANTI-TOXIN ANTIBODIES**

FOTORAN, WL1; MEDEIROS, MM1; COLHONE, M2; CIANCAGLINI, P2; WUNDERLICH, G1

1Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Parasitologia, USP, São Paulo, SP

2Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Departamento de Química, USP, Ribeirão Preto, SP

The formulation of an effective vaccine against malaria is still a significant challenge and the induction of high anti-parasite antibody titers plus a sustained T cell response is mandatory for the success of a vaccine. We have developed a nanoliposome-based structure which contains plasma membrane-associated proteins (PfMNP) of *Plasmodium falciparum* merozoites on its surface. Incorporation of parasite-derived proteins led to a significant increase in the size and dispersity of particles. Loaded particles were stable for prolonged periods at 4°C without loss of immunogenicity of its incorporated proteins. Immunization of PfMNP in BalbC and C57bl/6 mice led to high anti-parasite IgG titers (105) after the first dose and reaching a plateau (>106) after the 3 dose. While very high titers were observed against the C-terminal domain of the vaccine candidate MSP1, only modest titers were detected against MSP2. The induced antibodies showed also a strong growth inhibiting effect in reinvasion assays. In addition, PfMNP immunization generated antibodies which partially blocked the inflammatory response, probably by blocking TLR-induced activation of macrophages by malarial toxins such as GPI anchors. When testing *P. yoelii* merozoite derived nanoparticles, we observed similar results regarding the antibody response. Upon challenge with 106 parasites of the lethal strain *P. yoelii* XL, all nanoliposome-immunized animals were protected from death, while all control animals succumbed to infection. Notably, co-formulation of PyMNP with monophosphoryl lipid A seemed to exacerbate the immune response leading to premature death of a few immunized animals upon infection. The results underline the potential of nanoliposome-based formulations as anti-malarial vaccines.

keywords: Malaria, nanoparticles, GPI-anchored proteins

Funded by FAPESP, CAPES and CNPq

**-R04 -**

**STICHOOLSINS, PORE-FORMING TOXINS FROM A SEA ANEMONE: STRUCTURE-FUNCTION STUDIES AS PLATFORMS FOR NANOBIOTECH APPLICATIONS**

CARLOS ÁLVAREZ<sup>1</sup>, URIS ROS<sup>1</sup>, AISEL VALLE<sup>1</sup>, LOHANS PEDRERA<sup>1</sup>, GUSTAVO P. B. CARRETERO<sup>2</sup>, RADY LABORDE<sup>1</sup>, YOELYS CRUZ<sup>1</sup>, SHEILA CABEZAS<sup>1</sup>, MAYRA TEJUCA<sup>1</sup>, EDUARDO M. CILLI<sup>3</sup>, ROSANGELA ITRI<sup>4</sup>, ANDREZA B. GOMIDE<sup>4</sup>, EDUARDO LISSI<sup>1</sup>, FABIOLA PAZOS<sup>1</sup>, SHIRLEY SCHREIER<sup>2</sup>, MARÍAE. LANIO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for Protein Studies, Havana University, Cuba,

<sup>2</sup>Chemistry Institute, São Paulo University, Brazil,

<sup>3</sup>Chemistry Institute, UNESP, Araraquara, Brazil,

<sup>4</sup>Physics Institute, São Paulo University, Brazil,

<sup>5</sup>Santiago de Chile, University, Chile.

Email: calvarez@fbio.uh.cu

The sea anemone *Stichodactyla helianthus* produces two pore-forming proteins, sticholysins I and II (StI/II, Sts), belonging to the actinoporin family. Sts are highly hemolytic cysteineless proteins, with Mr around 20 kDa, a high isoelectric point (>9.5), and a preference for sphingomyelin-containing membranes. StI's 3D structure is formed by a hydrophobic  $\beta$ -sandwich core flanked on the opposite sides by two  $\alpha$ -helices comprising residues 14–23 and 128–135. Sts are produced in soluble form but they readily bind to cell and model membranes such as lipidic monolayers and vesicles. Both binding and pore-formation are critically dependent on the membrane lipid composition. The joint presence of cholesterol and sphingomyelin strongly enhances membrane binding and permeabilization. Experimental evidence supports the hypothesis that the first thirty N-terminal residues are the best candidates involved in the formation of a toroidal pore presumably comprising four N-terminal  $\alpha$ -helices. In spite of their high sequence identity (93%), St II shows higher hemolytic activity than StI becoming natural tools to study structure-function along actinoporin protein family. In order to understand these differences, conformational and functional characterization of synthetic peptides mimicking Sts N-terminal amino acid sequence have been conducted showing the relevance of the highly hydrophobic first ten amino acid residues for Sts competent folding and activity. Moreover, site directed mutants of sticholysins both in the N-terminus and in the membrane binding region have contributed to understand their relative functional relevance. Based on the understanding of structure-function relationship in Sts, novel cytosolic delivery systems of macromolecules to promote an antigen-specific cytotoxic immune response are currently being developed in our laboratory.

KEY WORDS: pore-forming toxin, sea anemone, nanobiotechnology.

Financial Support: CNPq-MES, CAPES-MES, IFS, Red Iberoamericana CYTED BIOTOX 212RT0467.



**-R05-**

**ALÉRGENOS RECOMBINANTES PARA O DIAGNÓSTICO E IMUNOTERAPIA CONTRA ALERGIA AO VENENO DE HYMENOPTERA SOCIAIS**

BROCHETTO-BRAGA, MR<sup>1</sup>; JUSTO JACOMINI, DL<sup>1</sup>; CAMPOS PEREIRA, FD<sup>1</sup>; GOMES MOREIRA, SM<sup>2</sup>; ZOLLNER, RL<sup>3</sup>,

<sup>1</sup>Depto. Biologia, UNESP, Rio Claro, SP; <sup>2</sup>Centro de Biociências, UFRN, Natal, RN; <sup>3</sup>Depto. Imunologia Clínica e Alergia, FCM, UNICAMP, Campinas, SP.

Existem no Brasil mais de 300 espécies de vespas sociais da Família Vespidae e Subfamília Polistinae, das quais 104 são endêmicas. Polistinae é representada em nosso país, pelas tribos Polistini, Mischocyttarini e Epiponini. A espécie de vespa social *Polybia paulista* (tribo Epiponini) é bastante abundante nos estados de São Paulo e sul de Minas Gerais, tem hábitos urbanos e é muito agressiva, causando muitos acidentes de importância médica. Apesar do grande número de espécies existentes, até o momento, não existem extratos alergênicos ou componentes disponíveis no Brasil para o diagnóstico e tratamento de pacientes alérgicos ao veneno de insetos. Neste trabalho, avaliamos o potencial imunogênico dos alérgenos recombinantes de hialuronidase e fosfolipase A1 (Pp-Hyal recB e Pp-PLA1 recB, expressos em *E. coli*, em adição à Pp-Hyal recY - expresso em levedura *Pichia pastoris*) comparativamente às proteínas alergênicas nativas, para o reconhecimento de imunoglobulina E (IgE) no soro de pacientes alérgicos e exclusivamente reativos ao veneno da vespa social endêmica *P. paulista*. Os alérgenos nativos e recombinantes purificados foram utilizados para a produção de anticorpos policlonais em camundongos isogênicos Balb/C e a seguir, testados por Western Blotting para verificar suas especificidades e reatividade imunológica cruzada com venenos de outros insetos Hymenoptera. Nossos resultados demonstraram que os alérgenos recombinantes têm um grande potencial para uso em imunoterapia específica bem como em kits de diagnóstico para alergias causadas pelo veneno dessa vespa e de outros insetos filogeneticamente mais relacionados. Desta forma, tendo-se em conta que estes são os primeiros alérgenos recombinantes de veneno de uma espécie de vespa social da ordem Hymenoptera, endêmica no Brasil, estes dados vêm para preencher uma lacuna existente, uma vez que atualmente, os nossos pacientes são tratados com extratos de veneno de insetos provenientes de países de clima temperado.

Palavras-chave: *Polybia paulista*, veneno, alérgenos recombinantes, imunoglobulina E (IgE), imunoreatividade cruzada.

Fomento: FAPESP Procs. 2009/51539-1 e 2006/54799-6, PROAP/CAPES, FUNDUNESP/UNESP Proc.119710-DFP.

**-R06-**

**BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL AND NEUROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ALKALOIDS ISOLATED FROM THE PLANT *Erythrina mulungu* MART. EX BENTH**

BELEBONI, R.O.<sup>1\*</sup>; FAGGION, S.A.<sup>1</sup>; ROSA, D.S.<sup>1</sup>; GELFUSO, E.A.<sup>1</sup>; CUNHA, A.O.S.<sup>2</sup>; PEREIRA, A.M.S.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Biotechnology Department, Ribeirão Preto University, Brazil;

<sup>2</sup>Physiology Department, FMRP, São Paulo University, Brazil.

Neural mechanisms related to the occurrence of epilepsy and anxiety involve an imbalance between inhibitory and excitatory neurotransmitter systems. Both epilepsy and anxiety are relevant neurological disorders and the prospecting of novel molecules from natural sources has deserved special interest on development of new medicines useful for therapeutic purposes. In this work, we isolated the erythrinians alkaloids (+)-erythravine, (+)-11- $\alpha$ -hydroxyerythravine and erysothrine from the flowers of *Erythrina mulungu* and investigated its anticonvulsant and anxiolytic actions based on neuroethological and neurochemical approaches. According our results, (+)-erythravine inhibited seizures evoked by bicuculline (80%), pentylentetrazole (PTZ) (100%), and kainic acid (100%). The alkaloid (+)-11- $\alpha$ -hydroxy-erythravine inhibited seizures at a maximum of 100% when induced by bicuculline, NMDA, and kainic acid, and, to a lesser extent, PTZ (60%). Both alkaloids were able to increase latencies to seizures onset of non protected animal sat specific conditions of experimentation and protect the animals against death. Different from (+)-erythravine, (+)-11- $\alpha$ -hydroxyerythravine, which anxiolytic properties were previously investigated, the alkaloid erysothrine was completely unknown about its anticonvulsant and also anxiolytic properties. Besides a relevant increase of latencies to seizures onset and animal protection against death, erysothrine inhibited seizures induced by bicuculline, PTZ, NMDA and particularly by kainic acid. Also, erysothrine induced an increase in the number of entries but not in the time spent in the EPM open arms, without any alterations in the light-dark choice or in the open-field assays. Thus, erysothrine also possess an interesting anticonvulsant activity and it is well tolerated by animals, but, different from its natural chemical analogs (+)-erythravine and (+)-11- $\alpha$ -hydroxyerythravine, exerts only a very mild anxiolytic effect. We also prove that all of alkaloids in test did not alter the GABA or glutamate synaptosomal uptake and binding, remaining their mode of action unknown. In this context, further studies evolving new molecular approaches for mode action investigation or even new neuroethological experimental arrangements are in course for a better understanding of the actions of those alkaloids on CNS. To date our results are of relevance for a better understanding of the ethnopharmacological/ biotechnological potential of *E. mulungu*.

Key-Words: E. mulungu; (+)-erythravine; (+)-11- $\alpha$ -hydroxyerythravine; erysothrine.

- R07 -

### CUANDO CRECER NOS CAMBIA: EL CASO DE CROTALUS SIMUS SIMUS

GÓMEZ, A<sup>1</sup>; CHACÓN, D<sup>1</sup>; RODRÍGUEZ, S<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Clodomiro Picado, Universidad de Costa Rica. Dulce Nombre de Coronado, San José, Costa Rica.

O gênero *Crotalus* inclui 36 espécies que, excetuando-se uma, estão distribuídas ao Norte do Continente Americano. A serpente cascavel neotropical (*Crotalus simus*) distribui-se por uma maior extensão territorial, estando presente desde o México até o Norte da Argentina. A dieta da serpente está baseada principalmente em animais endotérmicos. Observa-se, no entanto, uma variação no perfil alimentar das serpentes juvenis, onde *Ctenosaura similis* e outros lagartos são os principais componentes da sua dieta, embora esta tenda a mudar conforme a idade das serpentes. Estudos de comparação bioquímica e farmacológica entre peçonhas de serpentes adultas com peçonhas de serpentes juvenis e de recém nascidas demonstraram que existem diferenças significativas em suas propriedades, tanto na letalidade, nos efeitos locais e sistêmicos, nos perfis eletroforéticos e cromatográficos bem como no seu proteoma. A variação ontogenética reflete no conjunto de proteínas sintetizadas por indivíduos de *C. simus* adultos e juvenis. O proteoma do peçonha de adultos é composto por sete famílias de proteínas, sendo a sua maioria metaloproteases, enquanto que o proteoma de neonatos é notoriamente distinto, composto principalmente por crotoxina e serinoproteases. Essa diferença na composição proteica gera a questão de quando ocorreria o câmbio ontogenético nas serpentes *C. simus*. Estudos anteriores empregaram serpentes juvenis de até seis semanas de idade porém não foram capazes de determinar o câmbio na composição da peçonha. As serpentes nascidas em cativeiro no Instituto Clodomiro Picado foram submetidas a extrações de peçonha a cada três meses durante 39 meses. A cada extração de peçonha, se registraram os dados biométricos (comprimento cabeça-cloaca, comprimento de cauda e comprimento total, em centímetros) e o peso (gramas). A peçonha foi processada e caracterizada quanto ao seu proteoma em cada um dos tempos definidos como os estágios de vida. A transição característica da peçonha tipo II (juvenis) para a peçonha tipo I (adultos) ocorre entre os 9 – 18 meses de idade. As serpentes destas idades apresentam as seguintes características: Aos 9 meses de idade, um comprimento médio de  $54.5 \pm 4.1$  cm e um peso médio de  $96.56 \pm 21.24$  g. Aos 18 meses um comprimento médio  $82.6 \pm 4.5$  cm e um peso médio  $252.03 \pm 34.22$  g. Assim, nota-se que as serpentes mudam sua composição venômica para a peçonha tipo I muito antes de, biometricamente alcançar o estado adulto independentemente da dieta empregada.

Palavras-chave: câmbio ontogenético, *Crotalus simus*, câmbio morfométrico, proteômica.

Financiamento: Proyecto 741-B2-093 de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

- R08 -

### ENCAPSULAÇÃO DE EXTRATOS PADRONIZADOS E SEU EFEITO NA ATIVIDADE LARVICIDA SOBRE *Aedes aegypti*

KANIS, L. A<sup>1</sup>; PROPHIRO, J.S<sup>2</sup>; MOTERLE, D.<sup>1</sup>; NOGARETTI, R.M.<sup>1</sup>; RABELLO, B.D.<sup>1</sup>; KULKAMP-GUERREIRO, I.C<sup>3</sup>; SILVA, O.S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>TECFARMA, UNISUL, Tubarão, SC. <sup>2</sup>IMPAR, UNISUL, Tubarão, SC. <sup>3</sup>Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, UFRGS, Porto Alegre, RS.

A principal razão para a busca de novas alternativas para o controle de insetos transmissores de doenças se deve a frequente mudança de susceptibilidade destes frente aos inseticidas sintéticos. Apesar de existirem um grande número de plantas com potencial atividade inseticida, existem poucos produtos botânicos disponíveis no mercado. Esta situação é explicada pela falta de produção de matéria prima vegetal em escala, padronização dos extratos e óleos vegetais, e também porque os melhores resultados foram obtidos com óleos ou resinas que apresentam baixa solubilidade em água, fato que dificulta sua dispersão no meio ambiente. A padronização dos processos de produção/obtenção dos extratos e óleos vegetais e a possibilidade de micro ou nano encapsulação são alternativas que tem sido estudadas para auxiliar no desenvolvimento de novos inseticidas de origem botânica, com objetivo de obter reprodutibilidade em sua atividade, ação prolongada e reduzido efeito ambiental. Desta forma o objetivo deste trabalho é apresentar resultados que demonstram a necessidade de padronização dos extratos e óleos botânicos e também o efeito da micro e nanoencapsulação sobre a atividade biológica destes. Foram adquiridos dois óleos resina de *Copaifera sp*, um a partir da mistura de resina extraída de *Copaifera multijugae* de *Copaifera reticulata*, e outro apenas da *Copaifera reticulata*. Estes foram caracterizados quimicamente e avaliado sua atividade larvicida sob *Aedes aegypti*. Em seguida, com o óleo resina que apresentou melhor atividade foram produzidas nano e microcápsulas utilizando diferentes tipos de polímeros, caracterizados seu tamanho e polidispersidade e avaliado sua atividade larvicida e residual. Diferentes cápsulas foram dopadas com corante, e através de microscopia óptica foi determinado o principal local onde estas se situavam nas larvas após sua exposição às concentrações letais. Os óleos resinas de *Copaifera sp* apresentaram significativa diferença na composição química e também em suas atividades larvicidas. Enquanto a amostra originária da mistura de *Copaifera multijuga* e de *Copaifera reticulata*, apresentou concentração letal 50% de 48 ppm a amostra originada apenas de *Copaifera reticulata* foi superior

a 250 ppm. As cápsulas produzidas com polímeros naturais produziram concentrações letais inferiores as cápsulas produzidas com polímeros sintéticos, fato associado a facilidade de difusão do ativo do núcleo para o meio. Independente do polímero, a encapsulação facilitou a dispersão do óleo em meio aquoso, fato que auxilia sua aplicação. O tamanho de partícula afetou o mecanismo e velocidade de ação e também a concentração letal.

Palavras chave: *Aedes aegypti*, larvicida, encapsulação, padronização  
Fomento: UNISUL, FAPESC, Austen Farmacêutica e CNPq.

**-R09-**

### **PRODUTOS NATURAIS COMO ESTRATÉGICA PARA INIBIR A ADESÃO BACTERIANA E FORMAÇÃO DE BIOFILMES PATOGENICOS**

TRENTIN DS1,2, SILVAMV5, GIORDANI RB6, MACEDO AJ1,2

1Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, RS. 2Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS. 3 Centro de Ciências Biológicas e Departamento de Bioquímica, UFPE, Recife, PE. 4Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia, UFRN, Natal, RN

Plantas produzem uma grande quantidade de compostos biologicamente ativos, seja por seu programa de crescimento e desenvolvimento ou em resposta ao ataque de patógenos ou estresse. Na medicina tradicional várias plantas são utilizadas para o combate da ação de micro-organismos patogênicos. Neste contexto, estima-se que cerca de 80% das infecções humanas estejam associadas a biofilmes bacterianos, destacando-se aquelas que envolvem implantes biomédicos. Assim, a busca por compostos que inibam a ação de bactérias patogênicas em fases iniciais de adesão e conseqüentemente a formação de biofilmes é uma estratégia alternativa as terapias existentes e, portanto, muito promissora. Nosso grupo de pesquisa vem trabalhando no rastreamento e elucidação de moléculas oriundas de plantas – em especial da Caatinga – no combate a adesão e formação de biofilme de bactérias patogênicas. Os estudos tem apontado a Caatinga como uma promissora fonte desses compostos com elevada atividade. Nessa área multidisciplinar, envolvendo fitoquímica, microbiologia e ciência dos materiais, temos mostrado que compostos naturais possui uma capacidade de inibir a adesão de bactérias e ao mesmo tempo ser biocompatível com a adesão de células mamíferas.

Palavras chave: produtos naturais, biofilmes microbianos  
Fomento: CAPES, CNPq e FAPERGS

**-R10-**

### **THERMODYNAMIC EVALUATION OF PROTON AND WATER EXCHANGE ASSOCIATED WITH BENZAMIDINE AND BERENIL BINDING TO $\beta$ -TRYPSIN**

M.T. PEREIRA1,2, C.S. PERILO2, V. ALMEIDA3, R. NAGEM2, M.M. SANTORO2

1Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear,  
2Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas,  
3LBS, Pos Doc, Instituto de Ciências Exatas,  
Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

Serine-proteases are involved in vital processes in virtually all species. They are important targets for researchers studying the relationships between protein structure and activity, for the rational design of new pharmaceuticals. Trypsin was used as a model to assess a possible differential contribution of hydration water to the binding of two synthetic inhibitors. Thermodynamic parameters for the association of bovine  $\beta$ -trypsin (homogeneous material, observed 23,294.4  $\pm$  0.2 Da, theoretical 23,292.5 Da) with the inhibitors benzamidine and berenil at pH 8.0, 25°C and with 25 mM CaCl<sub>2</sub>, were determined using isothermal titration calorimetry and the osmotic stress method. The association constant for berenil was about 12 times higher compared to the one for benzamidine (binding constants are  $K = 596,599 \pm 25,057$  and  $49,513 \pm 2,732$  M<sup>-1</sup>, respectively; the number of binding sites is the same for both ligands,  $N = 0.99 \pm 0.05$ ). Apparently the driving force responsible for this large difference of affinity is not due to hydrophobic interactions because the variation in heat capacity ( $C_p$ ), a characteristic signature of these interactions, was similar in both systems tested ( $-464.7 \pm 23.9$  and  $-477.1 \pm 86.8$  J K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup> for berenil and benzamidine, respectively). The results also indicated that the enzyme has a net gain of about 21 water molecules regardless of the inhibitor tested. The difference in affinity could be due to a larger number of interactions between berenil and the enzyme based on computational modeling. The data support the view that pharmaceuticals derived from benzamidine that enable hydrogen bond formation outside the catalytic binding pocket of  $\beta$ -trypsin may result in more effective inhibitors.

Key words: Benzamidine; Berenil; Calorimetry; Protein Solvation; Trypsin; Osmotic stress

**-R11 -**

**APPRAISAL OF ANTIOPHIDIC POTENTIAL OF MARINE SPONGES AGAINST *Bothrops jararaca* AND *Lachesis muta* VENOM**

1FAIOLI, C.N.; 1,2DOMINGOS, T.F.S.; 1OLIVEIRA, E.C.; 3SANCHEZ, E.F., 4RIBEIRO, S.; 4MURICY, G.; 1FULY, A.L.

1Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brazil. 2Departamento de Biologia Marinha, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brazil. 3Centro de Pesquisa e Desenvolvimento, Belo Horizonte, MG, Brazil. 4Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Snakebites are a health problem in many countries because of the high incidence of such accidents, and according to World Health Organization is a neglected disease. Until now, snake antivenoms have been the only effective treatment able to counteract most of the symptoms that follow snake bites. And, in Brazil it has been used for more than a century. As known, antivenoms have some disadvantages, as they may produce side effects (from mild fever to anaphylactic reactions), poorly inhibit local effects and have high production costs. The production of higher quality, safer and cheaper antivenoms is a challenge worldwide. Thus, it has been relevant to search for new strategies to improve antiserum therapy, and a variety of molecules from natural sources with antiophidian properties have been reported. However, antivenom properties of marine sponges have not been deeply investigated. So, we analyzed the ability of ten extracts of Brazilian sponge extracts (*Amphimedon viridis*, *Aplysina fulva*, *Chondrosia collectrix*, *Desmapsamma anchorata*, *Dysidea etheria*, *Hymeniacidon heliophila*, *Mycale angulosa*, *Petromica citrina*, *Polymastia janeirensis* and *Tedania ignis*) against in vivo (hemorrhage, edema and lethality) and in vitro (hemolysis, proteolysis and clotting) activities induced by *B. jararaca* and *L. muta* snake venom. In general, sponge extracts were incubated with venoms, and after those biological activities were tested. All sponge extracts inhibited proteolysis and hemolysis induced by both snake venoms, except *H. heliophila* which failed to inhibit any biological activity. *P. citrina* inhibited lethality, hemorrhage, plasma clotting and hemolysis induced by *B. jararaca* or *L. muta*. Moreover, other sponges inhibited hemorrhage induced only by *B. jararaca*. For hemorrhage and lethality, another set of experiments was performed. The sponge extracts of *A. fulva*, *A. viridis* and *P. citrine* were injected either i.p. or i.v. 15 min after injection i.p. of *B. jararaca* venom. When sponges were injected i.p., no protection in mice was observed. However, a slight protection was seen for *A. fulva* when injection was performed i.v. For hemorrhage, the sponge extracts (*M. angulosa*, *D. anchorata*, *P. citrine* and *T. ignis*) were injected i.d. 15 min after *B. jararaca* venom. Only the sponges *M. angulosa* and *D. anchorata* inhibited 20% and 40% the hemorrhagic activity of *B. jararaca* venom, respectively. On the other hand, *B. jararaca* venom was injected i.d. into mice, and the sponge extracts were administered intravenously 15 min later. Now, all the extracts inhibited hemorrhage, but with different profiles: *M. angulosa* (6%), *D. anchorata* (22%), *P. citrine* (22%) and *T. ignis* (20%). We conclude that Brazilian sponges may be a useful aid in the treatment of snakebites caused by *L. muta* and *B. jararaca* and therefore have potential for the discovery of molecules with antiophidian properties.

Key words: Brazilian sponges; snake venoms; neutralization. Financial support: FAPERJ, CNPq, CAPES, UFF/PROOPi

**-R12 -**

**PRINCÍPIOS ATIVOS ISOLADOS DE PLANTAS MEDICINAIS DO GÊNERO PIPER NATIVAS E CULTIVADAS NO ESTADO DE RONDÔNIA**

VALDIR ALVES FACUNDO

Universidade Federal de Rondônia, UNIR, Porto Velho-RO.

As plantas da família Piperaceae têm se revelado bastante promissora, pois algumas de suas espécies como *Piper nigrum* L., *Piper aduncum* L. e *Piper hispidinervum* C. DC., têm demonstrado excelentes resultados em pesquisas que avaliam suas potencialidades como plantas possuidoras de atividades controladoras de pragas e antiinflamatórias. Estudos fitoquímicos e farmacológicos com plantas do gênero Piper (Piperaceae) nativas e cultivadas no estado de Rondônia têm revelado serem produtoras de metabolitos secundárias comprovadamente ativas.

**-R13 -**

**MEDICINA TRANSLACIONAL: PROSPECTANDO MOLÉCULAS CANDIDATAS E PROPONDO ENSAIOS CLÍNICOS**

BENEDITO BARRAVIERA

Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos, CEVAP. Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu-SP.

O que é medicina translacional? O termo vem de “translational medicine”, um ramo da pesquisa médica que procura conectar diretamente a investigação científica básica ao tratamento do paciente. Em suma, trata-se do ramo da medicina que vai da “bancada ao leito do paciente”. Neste contexto surge o termo “molécula candidata”

derivado do idioma inglês “candidate molecule”. Trata-se daquela molécula prospectada na bancada que tem “potencial de aplicação clínica”. Entre 5 e 10.000 moléculas candidatas apenas uma chega às prateleiras das farmácias. Este desenvolvimento leva entre 15 e 20 anos e cerca de um bilhão de dólares são investidos. O principal problema do déficit da balança comercial brasileira está exatamente na importação de medicamentos. Este cenário precisa mudar urgentemente, principalmente o contexto das doenças negligenciadas que assolam nosso povo há décadas. De acordo com Marcia Angell (editora chefe do *New England Journal of Medicine* durante 20 anos), embora a Lei Bayh Dole (lei das patentes aprovadas pelo Congresso Americano) tenha sido nitidamente uma “mão na roda” para os gigantes da indústria farmacêutica e biotecnológica, é questionável se ela resultou em algum benefício para a comunidade global, em especial para os países tropicais. O selante de fibrina derivado de veneno de serpente é um “produto candidato” para diversas aplicações em medicina, inclusive como arcabouço para células troncos. O autor discutirá as dificuldades encontradas para se desenvolver um importante produto, de baixo custo, de procedência nacional e de grande aplicação para a rede do Sistema Único de Saúde (SUS). Este panorama será apresentado durante a apresentação.

**-R14-**

#### **APLICAÇÃO DO PROTEOMA DE ALTO RENDIMENTO COMO FERRAMENTA DE INVESTIGAÇÃO DE NOVOS PEPTÍDEOS DE VENENOS ANIMAIS: USO DE SECREÇÃO DE CNIDÁRIOS COMO MODELO**

CASSOLI, J.S.1,2; VERANO-BRAGA, T.3; OLIVEIRA, J.S.4; MONTANDON, G.G.1; COLOGNA, C.T.2; PEIGNEUR, S.2; PIMENTA, A.M.C.1; KJELSDEN, F.3; ROEPSTORFF, P.3; TYTGAT, J.2; LIMA, M.E.1

1Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil. 2Department of Pharmaceutical and Pharmacological Sciences, University of Leuven (KU Leuven), Leuven, Belgium. 3Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Southern Denmark, Odense, Denmark. 4Instituto de Ciências da Educação, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, Brazil.

As anêmonas-do-mar representam um dos grupos emergentes de animais de interesse em termos toxicológicos. Por essa razão, a venômica funcional, aplicada a prospecção de novas moléculas presentes em desses animais peçonhentos, é uma tendência mundial. O objetivo do presente trabalho foi a prospecção e a caracterização estrutural de compostos proteicos presentes na secreção da anêmona-do-mar *Stichodactyla duerdeni*, da costa brasileira, além da caracterização funcional parcial de um novo peptídeo. Para tal propósito, foi utilizado a combinação de técnicas proteômicas, como RPC-MALDI-TOF (via off line) e nRPC-ESI-LTQ-Orbitrap (online), e eletrofisiológicas, usando voltage-clamp de dois eletrodos e vários subtipos de canais para potássio sensíveis a voltagem clonados, expressos em ovócitos de *Xenopus laevis*. A secreção foi extraída por estímulo elétrico e fracionada por cromatografia de gel filtração, em Sephadex-G50, separando a mesma em 5 frações principais. As frações de baixa massa molecular, seguidamente, foram submetidas à RP-HPLC resultando em 35 novas subfrações, as quais foram analisadas por espectrometria de massa MALDI-TOF. O número de 134 massas distintas variando de 901 a 10833 m/z foi encontrado. Dentre as subfrações, um novo peptídeo de 3431 Da, denominado U-SHTX-Sdd1 foi purificado e completamente sequenciado por degradação de Edman e espectrometria de massa in tandem (LIFT e ETD). As análises de sequência revelaram a presença de O-HexNAc-Treonina como resíduo N-terminal; sendo o primeiro relato desse tipo de modificação pós-traducional em peptídeos de cnidários. Devido à similaridade de U-SHTX-Sdd1 com outras toxinas de anêmonas-do-mar, a atividade farmacológica de desse peptídeo foi acessada por medidas eletrofisiológicas, utilizando a técnica de voltage-clamp de dois eletrodos, em canais para potássio. No entanto, U-SHTX-Sdd1 não foi capaz de provocar qualquer efeito sobre os canais testados. Uma abordagem proteômica em larga escala foi empregada para lançar luz sobre a diversidade peptídica da secreção de *S. duerdeni*. Tal estratégia conduziu à identificação de 67 proteínas cujas anotações das mesmas foram realizadas pela ferramenta Blast2GO.

Palavras-chave: Proteoma, Anêmonas-do-mar, *Stichodactyla duerdeni*,

**-R15-**

#### **ENSAIO CLÍNICO COM O ANTIVENENO APÍLICO: UM NOVO SORO HETERÓLOGO ESPECÍFICO PARA MÚLTIPLAS PICADAS DE ABELHAS AFRICANIZADAS**

RUI SEABRA FERREIRA JUNIOR. DVM, MSc, PhD

Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos, CEVAP. Universidade Estadual Paulista, UNESP. rseabra@cevap.unesp.br

A apicultura brasileira iniciou-se em 1840 quando foram introduzidas as abelhas europeias *Apis mellifera mellifera*, carnica, caucasica e ligustica. Em 1956, para aumentar a resistência e a produtividade, abelhas rainhas africanas *Apis mellifera scutellata* foram trazidas para Rio Claro no Estado de São Paulo. Acidentalmente 26 colônias enxamearam e se distribuíram iniciando a africanização do plantel apícola americano. Estas abelhas híbridas, denominadas africanizadas, apesar de muito produtivas, são também muito defensivas. Assim, atacam maciçamente acarretando risco de vida a seres humanos e animais, tendo sido apelidadas de killer bees. O veneno é basicamente constituído de melitina (50-60%), fosfolipase A2 (11-12%),

apamina (3%), hialuronidase (1-2%), peptídeos (1%), água e sais minerais. Os principais componentes tóxicos são a fosfolipase A2 e a melitina. A dose letal do veneno é estimada em 19 picadas por quilograma de peso, o que corresponde a 500 picadas para um ser humano adulto. A epidemiologia dos envenenamentos tem mostrado aumento significativo da prevalência ano após ano. Assim, em 2006 foram notificadas 4.774 (4,87%) acidentes e 10.026 (7,17%) em 2012. Apesar de não ser de notificação compulsória estima-se que ocorram por ano aproximadamente 15 mil ataques, causando 140 mortes, com prevalência de 10,91% entre todos os acidentes causados por animais peçonhentos. Como não se dispunha de um soro apílico para ser utilizado pela rede SUS de assistência, todos os pacientes eram tratados sintomaticamente com a associação de drogas anti-histamínicas, corticosteroides e analgésicos potentes. Os que evoluem com choque anafilático e os acometidos por milhares de picadas são tratados em unidades de terapia intensiva dos hospitais de retaguarda. O desenvolvimento de um soro específico era o grande desafio, uma vez que os peptídeos de pequena massa molecular não induzem satisfatoriamente a produção de anticorpos pelos animais soro produtores. Baseado nisso os pesquisadores do Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos da UNESP (CEVAP) em parceria com os do Instituto Vital Brasil de Niterói (IVB) desenvolveram um novo soro apílico, em escala piloto, constituído de anticorpos contra os componentes tóxicos do veneno. O uso baseado em protocolos clínicos internacionais especialmente desenvolvidos poderá salvar vidas, haja vista que os ensaios pré-clínicos já confirmaram esta hipótese. Dessa forma, está sendo proposto um ensaio clínico fase II, multicêntrico (incluindo sete Centros da RNPC), do tipo dose-finding, não randomizado e aberto para se avaliar a segurança, a capacidade neutralizante e a menor dose eficaz tratando 20 pacientes acometidos por múltiplas picadas. Os objetivos serão os de avaliar a segurança, a gravidade dos eventos adversos e por meio de estudos farmacocinéticos e proteômicos, estabelecer a dose mínima necessária para neutralizar o veneno circulante. As metas futuras, após aprovação e certificação pela ANVISA e patenteamento pelo INPI, serão as de distribuir o produto para os hospitais da rede SUS e exportá-lo.

Palavras-chave: Abelha, *Apis mellifera*, Soro apílico, estudo clínico fase II, ANVISA.

#### **-R16-**

#### **INTERACTION OF ANTIMICROBIAN PEPTIDE AND TOXINS WITH MODEL MEMBRANES (GIANT UNILAMELLAR VESICLES) BY OPTICAL MICROSCOPY**

GOMIDE, A.B.1; ALVAREZ, C.2; CIANCAGLINI, P.3; CALDERON, LA.4; STABELI, R.4, ITRI, R.1

1Instituto de Física da USP, SP, Brasil

2Centro de Estudos de Proteínas – Universidade de Havana, Cuba

3FFCLRP-USP, Ribeirão Preto, Brasil

4Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à saúde, CEBio – Fiocruz Rondônia e UNIR – Porto Velho, RO, Brasil

Biological systems often involve complex events. In order to understand their complexity, simple models of a biological membrane were developed. In this presentation, we employed giant unilamellar vesicles (GUVs) to investigate the mechanism of action of the antimicrobial peptide (AMP), Ocellatin (Ock1), derived from the skin secretion of the Brazilian frog *Leptodactylus ocellatus* on lipid membranes. AMPs have emerged as promising agents against antibiotic-resistant pathogens. They represent essential components of the innate immunity and permit humans to resist infection by microbes. The effect comes from the ability of AMPs to interact with microorganism membranes and to induce several damages, causing their destabilization. Studies of mechanism of action of Ock1 on GUVs were conducted using lipid bilayers of some different phospholipid compositions. Basically, the peptide induces the formation of pores and, occasionally, disruption. The results showed that the pore formation efficiency depends on the GUVs composition. In particular, the peptides act to a higher extent on surface charged vesicles. Of note, Ock1 does not promote any effect on GUVs containing cholesterol. This study revealed that, certainly, the interaction and peptide binding must be driven by electrostatic mediated by hydrophobic forces. Further, it seems that Chol may inhibit such an effect, probably due to changes in the fluidity of the bilayer. Another two examples will be presented about the mechanism of action of two different toxins: crotamine that has been shown to interact preferentially to charged membranes and sticholysin, an actinoporin extracted from sea anemone, which has preference for sphingomyelin-containing membranes.

Keywords: GUVs, AMPs, crotamine, Sticholysin

Acknowledgments: Capes-Rede Nanobiotec; Rede Biotox-CYTED; CNPq-MES and FAPESP.

#### **-R17-**

#### **APLICAÇÃO DE LIPOSSOMAS E PARTÍCULAS POLIMÉRICAS NA TERAPIA ALTERNATIVA CONTRA LEISHMANIOSE CUTÂNEA**

MACEDO, S,R,A1; FERREIRA, A,S1; BARROS, N,B1; SOARES, A, M2; NICOLETE, R1

1Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Saúde, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ Rondônia, Velho – RO.

2Centro de Biomoléculas aplicadas à Saúde, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ Rondônia, Porto Velho – RO

As leishmanioses encontram-se entre as doenças infectoparasitárias de maior incidência no mundo. Causada por protozoários do gênero *Leishmania spp.*, essa doença acomete mais de 12 milhões de pessoas em 88 países, com cerca de 350 milhões sob o risco de adoecer. As drogas disponíveis para o tratamento da leishmaniose apresentam elevada toxicidade e nenhuma delas é suficientemente eficaz. Nos últimos anos, alguns trabalhos têm descrito moléculas de origem vegetal, bem como venenos de serpentes e suas toxinas como compostos com potencial atividade antiparasitária. Neste contexto, a produção de protótipos de fármacos abordando a micro/nanotecnologia é uma alternativa promissora, visto que diferentes moléculas podem ser direcionadas para a célula alvo contendo o protozoário. Como estudos do grupo de pesquisa destacam-se i) a avaliação *in vitro* da atividade anti-leishmania da toxina crotamina de *Crotalus durissus terrificus*, encapsulada em sistema de micropartículas poliméricas biodegradáveis constituídas pelo Ácido Poli Lático co-Glicólico (PLGA) como alternativa terapêutica. Neste estudo foram realizadas análises de caracterização *in vitro* das partículas e interação molecular entre as proteínas de *Leishmania amazonensis* e a toxina crotamina foram realizadas por Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS). A viabilidade das promastigotas e macrófagos expostos às toxinas encapsuladas e em solução foi avaliada através do ensaio colorimétrico de MTT. Além disso, foi determinado o índice fagocítico de macrófagos peritoneais incubados com micropartículas e o sobrenadante celular foi coletado para dosagem da citocina TNF- $\alpha$ . Também foi realizado um ensaio de infecção *in vitro* de macrófagos peritoneais com promastigotas de *L. amazonensis*. Outro estudo importante conduzido ii) Efeito do lupano lipossomal na infecção experimental por *Leishmania amazonensis*. A citotoxicidade do lupano lipossomal foi determinada utilizando o método MTT em macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c incubados com diferentes concentrações de lipossomos e lupano-lipossomal. Para avaliar o efeito do lupano lipossomal no tratamento da leishmaniose, camundongos BALB/c foram infectados com promastigotas de *L. amazonensis* e após seis semanas foram tratados por via intraperitoneal, durante 18 dias com 6 $\mu$ g/g de lupano lipossomal. O tamanho da lesão da pata foi monitorado durante 21 dias. A aplicação desta tecnologia no modelo de infecção por *L. amazonensis*, envolvendo a liberação intracelular de moléculas bioativas mostrou-se eficaz e inovadora para o desenvolvimento de terapias alternativas/complementares contra a leishmaniose cutânea.

Palavras-chave: *Leishmania amazonensis*, Crotamina, Micropartículas biodegradáveis, Lipossomas, Terapia alternativa/complementar. Fomento: Fiocruz; CNPq

-R18-

#### **NANOCORPOS DE CAMELÍDEOS COMO ESTRATÉGIA ALTERNATIVA PARA O TRATAMENTO DO ENVENENAMENTO OFÍDICO**

FERNANDES, C.F.1,2; PEREIRA, S.S.1; PRADO, N.R. 1; LUIZ, M.B.1; DILL, L. M.1; SILVA, M.P.; LUZ, M.G.1; ZANCHI, F.B.1; PEREIRA DA SILVA, L.H. 1; SOARES, A.M.1; STABELI, R.G.1,3

1Fiocruz Rondônia, Porto Velho, Rondônia, Brasil;

2Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, Porto Velho, Rondônia, Brasil;

3Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, Rondônia, Brasil.

A busca por fragmentos de anticorpos, visando melhorar características farmacocinéticas de imunoglobulinas heterólogas, como a distribuição tecidual, e minimizar o aparecimento de reações adversas, vem crescendo consideravelmente. Principalmente quando o objetivo é aprimorar o tratamento do envenenamento ofídico, um problema global de saúde pública, responsável por cerca de 125.000 mortes anuais e severas sequelas locais entre aproximadamente 2,7 milhões de vítimas. Camelídeos, em adição aos anticorpos convencionais, produzem imunoglobulinas funcionais desprovidas de cadeia leve, onde a região de reconhecimento antigênico é formada pelo domínio único variável da cadeia pesada, denominado VHH ou nanocorpo. Com um décimo do tamanho das imunoglobulinas convencionais, esses fragmentos possuem baixa imunogenicidade, são capazes de cruzar tecidos densos, estáveis a alterações de pH e temperatura e podem ser produzidos em microorganismos, evitando o manejo de grandes animais. Considerando as vantagens do VHH e a necessidade de desenvolvimento de alternativas à soroterapia antiofídica, nosso laboratório produziu fragmentos VHH de Lama glama que reconhecem especificamente toxinas de serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, com auxílio da tecnologia phage display. Para isso, duas Lama glama foram imunizadas com toxinas selecionadas e a resposta humoral dos animais acompanhada por ELISA. Fragmentos VHH foram amplificados por RT-PCR, após extração de RNA dos linfócitos dos animais e síntese do cDNA. Subsequentemente, duas bibliotecas de VHH foram construídas utilizando o fagomídeo PHEN1 e a cepa de *E. coli* TG1. Após infecção da biblioteca primária com o fago auxiliar M13K07, VHHs expressos na superfície do bacteriófago foram selecionados em imunotubos previamente adsorvidos com as proteínas utilizadas durante a imunização dos animais. A reatividade dos clones foi verificada por ELISA e experimentos de ressonância plasmônica de superfície. Além disso, dois clones foram capazes de inibir a miotoxicidade desencadeada pela fosfolipase botrópica usada no estudo. Os resultados preliminares indicam que VHHs podem ser ferramentas úteis e de baixo custo ao tratamento do envenenamento ofídico.

Palavras-chave: Nanocorpos, *B. jararacussu*, *C. d. terrificus*, envenenamento ofídico  
Fomento: CNPq/SEPLAN-RO, CAPES.

**-R19-**

**BANCO DE VENENOS ANIMAIS. DESAFIOS, OPORTUNIDADES E PERSPECTIVAS FRENTE A REGULAMENTAÇÃO DE ACESSO**

CALDERON, L.A.

Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas a Saúde, Universidade Federal de Rondônia e Fiocruz Rondônia, Porto Velho, Rondônia

O Banco de Venenos Animais da Amazônia foi criado na Fiocruz Rondônia com a proposta de armazenar venenos de animais da biodiversidade amazônica e atender ao art. 16, § 3º, da Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, que define regras para acesso legal ao patrimônio genético e conhecimento tradicional associado impõem que "Sub-amostra representativa de cada população componente do patrimônio genético acessada deve ser depositada em condição ex situ em instituição credenciada como fiel depositária". Após 4 anos de experiência e apoio do CNPq, possuímos amostras de veneno de espécies de serpentes e anuros obtidos dos estados do Acre, Rondônia, São Paulo e do Paraguai armazenadas a -86°C. Atualmente estamos operacionalizando um amplo biotério para hospedar os animais coletados e instalando um gerador a diesel de 25 kVa que vai proteger a coleção.

**-R20-**

**MANIPULAÇÃO DO SISTEMA IMUNE DO VETOR DA MALÁRIA, ANOPHELES DARLINGI, PARA O BLOQUEIO DA TRANSMISSÃO POR PLASMODIUM VIVAX USANDO RNAI: DESAFIOS E PERSPECTIVAS**

SILVA, AAE. 1,2; TRINDADE, FTT3; GOLENBOCK; D4, SILVERMAN, N.4

1Depto de Biologia, UNIR, Porto Velho, RO; 2FIOCRUZ-RO; 3PPG-Biologia Experimental, UNIR, RO; 4Umass Medical School, Worcester, MA,

A resposta do sistema imune inato, particularmente as vias Toll e IMD, vem sendo bastante estudada em *Anopheles gambiae* e provou ter uma potente resposta contra a infecção por plasmódios. Estudos mais recentes com anofelinos de diferentes espécies mostraram que o sistema imune dos mosquitos pode ser manipulado, aumentando a atividade antiparasito. Esses resultados sugerem que as metas tradicionais no controle vetorial podem ser modificadas e incluir estratégias que seletivamente possam ativar a resposta imune em espécies importantes de parasitos e hospedeiros. Desse forma, buscou-se identificar e avaliar o silenciamento por RNAi de reguladores negativos das vias IMD e Toll no principal vetor da malária no Norte, *Anopheles darlingi*, e seu papel na infecção por *Plasmodium vivax*, principal causador da malária nessa região. O objetivo de longo prazo dessa proposta é desenvolver intervenções que possam ser usadas em áreas endêmicas explorando a resposta inata dos mosquitos para o controle da malária, através, por exemplo, do screening de pequenas moléculas que possam ativar as vias Toll e ou IMD, tornando os mosquitos menos susceptíveis e eventualmente imunes aos plasmódios. Dois reguladores negativos, Caspar e Cactus, das vias IMD e Toll, respectivamente, foram identificados em *A. darlingi* e silenciados através de microinjeções de dsRNA. Os resultados indicam que o silenciamento de Cactus e Caspar e ativação da vias Toll e IMD, respectivamente, reduzam o fitness de *A. darlingi*, levando ao aumento da mortalidade durante os experimentos, sobretudo no injetados com Cactus, inviabilizando o estudo com esse regulador. Manipulações na dieta dos mosquitos aumentaram a sobrevivência dos mosquitos. Além disso, experimentos preliminares com metodologias alternativas para o delivery de dRNA, via oral e tópica, nos mosquitos sugerem que seja uma alternativa menos laboriosa e com menor impacto na sobrevivência dos mosquitos. Os resultados com as microinjeções mostram que o silenciamento de Caspar e ativação da via IMD em *A. darlingi* leva a diminuição na quantidade de oocistos e no número de mosquitos infectados em relação ao controle, mas a utilização de um controle com dsRNA exógeno (LacZ) parece causar diminuição na infecção. A utilização de PCR em tempo real para a quantificação relativa de *P. vivax* nos intestinos (oocistos) e glândulas (esporozoitos) mostrou-se mais sensível do que a microscopia óptica e importante para avaliação em situações típicas de baixa infecção encontradas em mosquitos não colonizados em laboratório.

Palavras-chave: RNAi, mosquito, infecção

Fomento: UMass, USA, CAPES.

**-R21-**

**DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS BASEADOS EM NANOTECNOLOGIA**

ANSELMO FORTUNATO RUIZ RODRIGUEZ

Universidade Federal do Acre, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza 69915-900 Rio Branco AC, Brazil

A nanotecnologia aplicada a área de farmácia esta envolvida no desenvolvimento, caracterização e aplicações de sistemas terapêuticos em escala manométrica ou micrométrica. Grandes esforços e estudos de tais sistemas esta direcionado em controlar a liberação controlada de fármacos. A aplicação da nanotecnologia para o tratamento, diagnóstico, monitoramento e controle de sistemas biológicos foi recentemente denominada "Nanomedicina" pelo *National Institute of Health*, nos Estados Unidos. A descoberta dos lipossomas nos anos



1960 veio aumentar a variedade de ferramentas para o desenvolvimento da nanotecnologia farmacêutica com sistemas lipídicos para vetorização de fármacos. Nos anos 1990 surgiram nanossistemas mais sofisticados, revestidos por polímeros hidrofílicos, denominados sistemas furtivos, que permitem um tempo de circulação maior no organismo.

**- R22 -**

**IDENTIFICAÇÃO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PEPTÍDEOS ANTIGÊNICOS DE VENENOS ARACNÍDICOS. PRODUÇÃO DE ANTI-VENENOS VACINAIS E TERAPÊUTICOS BASEADOS EM MOLÉCULAS SINTÉTICOS**  
CARLOS DELFIN CHÁVEZ OLÓRTEGUI

Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os acidentes por animais peçonhentos foram recentemente reconhecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como doenças não atendidas ou negligenciadas, que afetam milhões de pessoas pobres, sendo uma manifestação evidente das desigualdades prevaletentes em saúde. Os envenenamentos por animais peçonhentos são um importante problema de saúde pública no Brasil e no mundo. Em 2009, no Brasil de acordo com o Ministério de Saúde foram 120.361 acidentes com animais peçonhentos dos quais 29.000 foram com serpentes, 24.000 com aranhas; 48.000 com escorpiões e 4.000 com lagartas (*Lonomia sp*). O tratamento dos acidentados consiste no uso de antivenenos específicos. Estes antivenenos são preparados a partir de plasmas de cavalos hiperimunizados com misturas de venenos representativos de cada região do país. O uso tradicional de venenos inteiros para a produção dos antivenenos na imunização de cavalos tende a ser progressivamente substituído por anatoxinas ou toxinas purificadas, tendo em vista melhorar a especificidade do antiveneno e a qualidade de vida do animal produtor. Entretanto, para o desenvolvimento destas novas alternativas, foi importante a obtenção de informações sobre a estrutura e modo de ação das toxinas responsáveis pelos efeitos tóxicos que os venenos loxoscélicos causam nas vítimas, bem como as propriedades dos anticorpos originados contra estas proteínas. Utilizando a biotecnologia peptídica, realizamos a predição, seleção, produção e utilização de epítomos de toxinas de interesse e verificamos que imunógenos sintéticos ou recombinantes contendo epítomos previamente definidos podem ser utilizados na produção de anticorpos anti-toxinas. Desta forma, anticorpos monoclonais e policlonais altamente neutralizantes foram preparados e purificados contra alguns venenos de animais peçonhentos da fauna Brasileira.

Prof. Dr. Carlos Delfin Chávez Olórtégui,  
E-mail: olortegi@icb.ufmg.br  
CP: 486 – CEP: 30161-970  
Belo Horizonte-MG, Brazil.  
Phone: 00 55 31 3499-2645 – Fax: 00 55 31 3499-2614

**- R23 -**

**BACTERÍOFAGOS COMO UM INSTRUMENTO GENÉTICO PARA O BLOQUEIO DA TRANSMISSÃO DE PARASITAS TRANSMITIDOS POR VETORES INVERTEBRADOS**  
NAJLAB. MATOS<sup>1</sup>, ELIS P.A. BATISTA<sup>1</sup>, MITCHELL HOANG<sup>3</sup>, LUIZ H. S. GILL<sup>1</sup>, GAIL CHRISTIE<sup>3</sup>, LUIZ HILDEBRANDO PEREIRA DA SILVA<sup>1</sup>, LUIZ SHOZO OZAKI<sup>2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Pesquisa em Patologias Tropicais (IPEPATRO), Fiocruz-Rondônia. <sup>2</sup>Virginia Commonwealth University, Center for the Study of Biological Complexity (CSBC), Richmond, VA, USA. <sup>3</sup>Virginia Commonwealth University, Department of Microbiology and Immunology, Richmond, VA, USA. \*Corresponding author, +1-804-828-7296, +1-804-628-3066, fax +1-804-628-6094, Isozaki@vcu.edu

Vírus de bactéria ou bacteriófagos (fagos) são os organismos biológicos mais abundantes no bioma da Terra, estando presentes onde quer que bactérias sejam encontradas. Algumas de suas propriedades tem sido utilizadas em biotecnologia. Por exemplo, em *phage display*, uma técnica que tira vantagem da estrutura da capa para

exportar a superfície de peptídeos engenheirados. Estes peptídeos engenheirados e expostos (ligantes) são utilizados para sondar outras moléculas em amostras biológicas (receptores) para a identificação de importantes interações biológicas. Exemplos de interações ligante-receptor que poderiam ser bloqueadas utilizando um fago engenheirado são de patógenos em insetos vetores tais como o parasita da malária interagindo com receptores em tecidos do mosquito durante o desenvolvimento do parasita no trato digestivo do hospedeiro invertebrado. Um fago mais apropriado para este objetivo seria um já encontrado naturalmente no trato digestivo de um inseto. Apesar da vasta distribuição de fagos na natureza, não existem praticamente descrições de fagos em insetos ou mesmo em qualquer artrópodo. Uma das poucas descrições de fagos em insetos descreve atividade de fagos em mosca doméstica (Shope, 1927). Este trabalho mostra atividade de fagos em extrato salino de mosca inteira não identificando fagos presentes acidentalmente na parte externa do corpo do inseto de fagos no seu trato digestivo. Evidências, entretanto, que fagos sobrevivem ou mesmo prosperam em intestino de mosquito inclui: a) experimentos de *phage display* nos quais fagos engenheirados alimentados a mosquitos são encontrados pelo menos 24 horas depois ainda viáveis no intestino dos insetos; b)

estudos metagenômicos mostrando sequências de fagos em sequências totais de intestino de mosquito; c) espécies de bactérias que são infectadas por fagos conhecidos tem sido isoladas e identificadas em intestino de mosquitos. Com o intuito de desenvolver fagos como ferramentas genéticas para bloquear o desenvolvimento de parasita da malária no intestino do mosquito, foi testada a sobrevivência do fago Pf3 que infecta *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria encontrada em intestino de *Anopheles darlingi*, o mosquito vetor de malária mais importante da América Latina. Para tanto, este fago foi engenheirado com o gene de fluorescência verde (GFP, *green fluorescent protein*), Pf3-GFP, para facilitar a detecção do fago no inseto. Uma cultura de células de *P. aeruginosa* infectadas com o Pf3-GFP foi utilizada na alimentação de mosquitos e os resultados mostram que o fago Pf3-GFP sobrevive pelo menos 96 horas no intestino do mosquito, demonstrando sua viabilidade neste ambiente e o potencial deste organismo como ferramenta genética para o bloqueio de patógenos transmitidos por vetores insetos.

**-R24-**

**LEISHMANIA SPECIES IDENTIFICATION AND LEISHMANIAVIRUS DETECTION ON CLINICAL SAMPLES FROM CUTANEOUS AND MUCOCUTANEOUS LEISHMANIASIS PATIENTS IN RONDONIA, WESTERN AMAZONIAN REGION**

CANTANHEDE, LM1,2; SILVA-JÚNIOR, CF1; ITO, MM1; CUSTÓDIO, MGF2, ALVES, PH2, NICOLETE, R2; SALCEDO, JMV1,2; GARRIDO, LM3; PESCARINI, JM3; KRIEGER, H3; FERREIRA, RGM1,2.

1Universidade Federal de Rondônia, UNIR; 2FIOCRUZ Rondônia, Porto Velho, RO, Brazil; 3Universidade de São Paulo, USP

The *American tegumentary leishmaniasis* (ATL) is endemic throughout the Amazon region and the state of Rondonia is the third Brazilian state in number of reported cases, with an average of 1000 new cases per year. In Amazonia, seven different species of *Leishmania* have been described. Clinical manifestation may range from a cutaneous form to the destruction of the mucosal tissues. The mechanisms that lead to disease progression to the mucosal form in about 10% of patients treated or under treatment remain unclear and might be related with parasite and host genetic factors, immune response and more recently the presence a virus infecting the pathogen, named *Leishmania RNA Virus* (LRV). The objective of the present study was to identify the *Leishmania* species causing ACL in Rondonia, Brazilian western Amazonian region, as well as verify if the LRV could be detected among studied patients and its possible association with the presented clinical form. Cytology brush cotton swabs were collected from lesions of 137 patients with clinical suspicion of leishmaniasis and stored immediately in 1ml of RNA Later®. All samples were subjected to PCR amplification and species identification by RFLP with primers to the internal transcribed spacer 1 (ITS1), to the heat shock protein (HSP70) as well as kinetoplast DNA (kDNA) – only for leishmaniasis diagnosis. 121 patients presented positive results for at least one of the molecular tests applied. The most frequent species found using HSP70 was *Leishmania braziliensis* 73 (60.3%), followed by *Leishmania guyanensis* 33 (27.3%), *Leishmania shawi* 2 (1.7%), *Leishmania amazonensis* 1 (0.8%) and mixed infection was *L. guyanensis* and *L. braziliensis* 3 (2.5%), *L. guyanensis* and *L. amazonensis* 1 (0.8%). Species from 8 (4.2%) patients were not identified. The cutaneous form was found on 78 patients, mucous form on 38, both forms on 4, and 1 patient presented the diffuse form. For LRV detection, RNA was extracted from the positive samples and cDNA synthesized for PCR amplification using primers specific for the virus genome. The virus was detected in 57 patients (47.1%- 95%CI 38.1%...56.0%). A border line association ( $p = 0.074$ , Fisher's exact test) was found between the presence of LRV and the form of the lesion (excluding the diffuse and mixed forms patients). Overall, the risk of been positive for LRV among cutaneous form patients was 0.772 (95%CI 0.591...1.007) and among mucous for patients was 1,702 (95%CI 0.992...2.915).

Keywords: *Leishmania* species, cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis, leishmanivirus. Financial Support: FioCruz Rondônia and Capes.

**-R25-**

**CHEMICAL MODIFICATIONS OF BOTHROPS TOXINS FROM BOTHROPS JARARACUSSU: EVALUATION OF NEUTRALIZING ABILITY OF ANTIBODY PRODUCED AGAINST BPB-MODIFIED TOXINS**

SIMÕES-SILVA, R;1 MOREIRA-DILL, L. S;1 GUIMARÃES, C. L;1 OLIVEIRA, G. A;1 ZAQUEO, K. D;1 KAYANO, A. M;1 SOBRINHO, J. C;1 CALDEIRA, C. A. S;1 CALDERON L. A;1 GIGLIO, J. R;2 STABEL, R. G;1 SOARES, A. M.1

1CENTRO DE ESTUDOS DE BIOMOLÉCULAS APLICADAS À SAÚDE, CEBIO, FIOCRUZ/RO, PORTO VELHO - RO - BRASIL; 2.UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP, FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - FMRP, RIBEIRÃO PRETO - SP - BRASIL.

To improve antivenom production and extend the useful life of immunized horses effort has been devoted to decrease chronic venom toxicity. The use of ionizing radiation and chemical modification have showed suitable approaches for this purpose. BthTX-I and BthTX-II are the main myotoxic components found in the Bothrops jararacussu venom. They present PLA2 structure and have a functional histidine at 48 position. Alkylation of Histidine by 4-bromophenacyl bromide (BPB) has been widely used to assess the role of enzymatic activity in the

pharmacological actions of PLA2, but the influence of this chemical modification at the immune response is still unknown. In this study, the ability of antibodies produced against modified myotoxins was evaluated regarding to their capacity to recognize native proteins and to neutralize their pathological effects. BthTX-I and BthTX-II were subjected to chemical treatment with BPB, which alkyl histidine residues altering enzymatic and toxic characteristics. Polyclonal antibody was obtained by rabbits immunization with native (BjussuCV, BthTX-I and BthTX-II) and modified toxins (BjussuCV-BPB, BthTX-I-BPB and BthTX-II-BPB). In murine models, antibody produced against modified proteins was able to reduce the myotoxic (BthTX-I  $\approx$ 70%, BthTX-II  $\approx$  80% and Crude Venom  $\approx$  80%), phospholipasic (BthTX-II  $\approx$  25%) activities and increase LD50. Moreover, the cross-reactivity of these antibodies was evaluated in vitro by ELISA. The results indicated that the antibodies produced against modified proteins were able to recognize venom of several snakes (*B. moojeni*, *Crotalus durissus*, *Micrurus lemniscatus* and others) and isolated myotoxins (PrTX-I, MjTX-I, MjTX-II, CB and others). The results shown herein demonstrate that the alkylation using BPB represent a good approach to reduce the toxic effects of myotoxin, that may be useful to production of antivenom. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).

Keywords: cross-reactivity; antivenom; *Bothrops jararacussu*

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, BIONORTE, SEPLAN-RO and INCT/Inpetam.

**- R26 -**

### **ANTIBODIES PRODUCED AGAINST NATIVE AND MODIFIED PHOSPHOLIPASES A2: ANALYSIS OF ANTIGEN-ANTIBODY AND CROSS REACTIVITY INTERACTIONS BY SURFACE PLASMON RESONANCE**

MOREIRA DILL, L.S.1; GUIMARÃES, C.L.1; OLIVEIRA, G.A.1; SIMÕES-SILVA, R.1; ZAQUEO, K.D.1; KAYANO, A.M.1; CALDERON, L.A.1; GÍGLIO, J.R.2; SOARES, A.M.1; STABELI, R.G.1

<sup>1</sup>Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho-RO, Brazil; <sup>2</sup>Universidade de São Paulo (USP). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto FMRP, Ribeirão Preto - SP Brazil.

Introduction: The serumtherapy used for accidents caused by poisonous snakes have not improved significantly since the beginning of its application. Studies on the cross-reactivity of antibodies, mainly related to molecular interaction between antigen-antibody, constitutes a strategy for better understanding of the mechanisms of neutralization of toxins. Methods and Results: The BthTX-I and BthTX-II were purified from the venom of *Bothrops jararacussu* by High Performance Liquid Chromatography. Both phospholipases were subjected to chemical modification by reaction with 4-bromophenacyl bromide (BPB) that alkylate the histidine residue, altering their enzymatic and toxic characteristics. Antibodies were raised in rabbits by immunization with BPB-modified and native. The molecular interaction assays were performed on Biacore T200 system (GE – Healthcare). For this purpose, myotoxins were immobilized on CM5 sensor chip by amine coupling method. Results: The interaction assays performed with antibodies raised against native and modified proteins can enhance antigenic differences induced by chemical modification. Intending to evaluate the cross-reactivity, the affinities of antibodies produced against native or modified phospholipase A2 isolated from *Bothrops moojeni* venom was measured by confronting them against the myotoxins BthTX-I and BthTX-II immobilized on sensor chip, all antibody samples were analyzed on the standardized concentration of 100ug/ml and showed different levels in response to the sensorchip immobilized containing BthTX-I. The antibodies Anti-BthTX-I naive and modified with BPB, showed maximal response 2000 RU's, while Anti-MoojTX-I-native did not respond significantly, however, the Anti-MoojTX II-native showed an interaction of RU 10000, confirming the ability of anti-MoojTX-II to recognize PLA2 other species. One of the main observations which takes this study, is that the modification of BthTX-I by BPB did not affect the ability of antibodies to recognize the native toxin, that may enable improvements in the production of antivenom since the animal does not suffer the effects of the toxin. as result it was able to prove the cross-reactivity between antibodies produced against *B. moojeni* antibodies and *B. jararacussu* myotoxins. Conclusion: The results shown here demonstrate that the SPR analysis is a suitable approach to assess the quality of antivenom produced against snake venom. The cross reactivity, that has been evidenced between toxins from different species of *Bothrops* sp can be better evaluated, as well chemical modification that has been proposed to reduce toxic effects of snake venom toxins.

Keywords: Surface Plasmon Resonance; Antivenoms; Cross-Reactivity. Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, BIONORTE, SEPLAN-RO and INCT/Inpetam.

**- R27 -**

### **CAMELID NANOBODIES, AN ALTERNATIVE TO DIAGNOSIS HANTAVIRUS INFECTION**

PEREIRA, S.S.1; FERNANDES, C.F.1,2; PRADO, N.D.R. 1; MORAIS, M.S.S.1; LUIZ, M.B. 1; DILL, L.S.M. 1; MAZZAROTO A.C.A.G.; STROTTMANN, M.D; SOARES, A. M.; SANTOS, C.N.D. 3; STABELI, R.G.1,3

<sup>1</sup>Fundação Oswaldo Cruz Rondônia, Porto Velho, Brazil; <sup>2</sup>Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, Porto Velho, Brazil; <sup>3</sup>Instituto Carlos Chagas - Fiocruz Paraná, Brazil

Hantaviruses that belong to the Bunyaviridae family can cause Hantavirus pulmonary syndrome (HPS) in the American continent. The infection in human occurs through inhalation of aerosolized excreta from chronically infected rodents and the association of the disease with different rodent reservoirs in several geographic areas suggests the development of region-specific antigens. HPS is characterized by fever and vascular leakage, resulting in noncardiogenic pulmonary edema followed by shock. With a case-fatality rate about 50%, a rapid and accurate diagnosis during the early course of the disease is essential to reducing the high mortality rate associated with hantavirus infection. Camelids produce, in addition to conventional antibodies, IgG composed exclusively of heavy chains, in which the antigen binding site is formed only by the single domain, called VHH or nanobody. This work proposes the use of camelid nanobodies against *Araucaria* hantavirus recombinant nucleoprotein (rNΔ85) of a Brazilian hantavirus to develop alternative methods to diagnosis and confirm hantavirus infection. To generate VHHs, the phage display technology was employed. VHH domains were isolated by RT-PCR using cDNA obtained after RNA extraction from peripheral lymphocytes of an immunized *Lama glama*. Amplicons were cloned into PHEN1 phagemid vector and TG1 *E. coli* strain to construct a VHH immune library with a titer of  $4,7 \times 10^{11}$  cfu/mL. Subsequently, VHH domains were displayed fused to M13K07 phage coat protein III and the selection steps performed on immobilized rNΔ85 protein. After two rounds of selection by biopanning using the prNΔ85, 87 clones were selected, which 11 of them characterized by sequencing and available in GenBank, the sequences were separated in four groups according to the variation shown in determining regions of complementarity. After preliminary tests of interaction by surface plasmon resonance (SPR) and immunodetection by ELISA, the clone VHH KC329708 that demonstrated the recognition ability was selected and subcloned into the phagemid vector pHEN 6xHistag and subjected to chromatography on Ni<sup>2+</sup> column for purification process. In kinetic tests by SPR the purified VHH was used and the mAbs anti prNΔ85 was used as a reference. It was found that clone VHH KC329708 showed a  $KD = 5,527 \times 10^{-6}$  (M) and about 10RU, as compared to the monoclonal antibody is  $KD = 3,386 \times 10^{-6}$  (M) and about 3.5RU. The results obtained in this study support the use of VHH as a prototype for diagnosis due to its capability of recognize to prNΔ85 of the hantavirus.

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, SEPLAN-RO, BIONORTE, and INCT/Inpetam.

#### **-R28-**

#### **SNAKEBITES ENVENOMATION AND ALTERNATIVE SEROTHERAPY BY CAMELID NANOBODIES**

PRADO, NDR1; PEREIRA, SS1; MORAIS, MSS1; DILL, LM1; LUIZ, MB1; PEREIRA DA SILVA, LH1; SOARES, AM1; STABELI, RG1; FERNANDES, CFC1,2

1Laboratório de Engenharia de Anticorpos - Fundação Oswaldo Cruz Rondônia, Porto Velho, Rondônia;  
2Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, Porto Velho, Rondônia;  
3Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde – Fundação Oswaldo Cruz Rondônia, Porto Velho, Rondônia.

In Brazil, venomous snakes have been classified into Bothrops, *Crotalus*, *Lachesis* and *Micrurus* genera. The Bothrops genus comprises more than 60 species and causes about 73.5% of reported envenoming by snakebites. Two myotoxic phospholipases were isolated from *B. jararacussu* venom, bothropstoxin I and II (BthTX-I and BthTX-II). Although both toxins participate in the damage caused by *B. jararacussu* poisoning, as hemorrhage, edema and necrosis, BthTX-I presents no enzymatic activity, while BthTX-II is enzymatically active. Heterologous serum produced in horses remains the standard treatment for snake bite envenoming. Despite high efficacy, this treatment is not able to reverse effectively local damage caused by snake envenoming, making necessary to search for new therapies. Camelids, in addition to conventional antibodies, produce functional immunoglobulins G devoid of light chains, in which the antigen binding site is formed only by the single domain called VHH or nanobody. Besides small size and neutralization capability, VHHs presents thermal and pH stability, low immunogenic potential, and low cost production. Considering the camelid VHH characteristics, this work aimed to produce and to characterize VHH fragments against BthTX-I and II. For that, a VHH immune library was constructed employing the phage display technology. VHHs regions were isolated by PCR using peripheral lymphocyte cDNA obtained from one *Lama glama* immunized with BthTX-I and II toxins. Subsequently, amplicons were cloned into PHEN-1 phagemid using TG1 *E. coli* strain, and the primary library infected with M13K07 helper phage to display VHH fused to phage coat protein (PIII). After selection step performed on immobilized BthTX antigens, 26 and 6 clones recognized BthTX-I and II, respectively, by ELISA. Only the clone KC329718 was able to recognize both toxins. To characterize the clones in silico, the complementarity determining regions (CDRs), frameworks (FRs) and the known camelid VHH hallmark of ten distinct amino acid sequence profiles were determined. Clone KC329718 was transformed in a non-suppressor *E. coli* strain HB2151 and purified by affinity chromatography using Ni-NTA column. Affinity between VHH and BthTX-I and II was demonstrated by surface plasmon resonance analysis showing a  $KD = 5.387 \times 10^{-8}$  (M) and  $RU = 185$  for BthTX-I and  $7.702 \times 10^{-7}$  (M) and  $RU = 25$  for BthTX-II. Selected VHHs could be a powerful strategy to improve the treatment of snake poisoning. Further experiments have to be performed to verify the neutralization capability of identified VHHs.

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, BIONORTE, SEPLAN-RO and INCT/Inpetam.

-R29-

### ESTUDO DE INTERAÇÃO MOLECULAR DE INIBIDORES NATURAIS DE BOTHROPSTOXINA I E II VIA RESSONÂNCIA PLASMÔNICA DE SUPERFÍCIE

NASCIMENTO, M. J. M.1; DILL, L. S. M.1; GUIMARÃES, C. L.1; PALOSCHI, M. V.1; RODRIGUES, R. F.1; SILVA, R. S. 1; ZAQUEO, K. D.1; COSTA, T. R.2; CALDERON, L. A.1; STABELI, R. G.1; SOARES, A. M.1

1Departamento de Medicina, UNIR, Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Porto Velho-RO, Brasil; 2FCFRP, USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil.

**INTRODUÇÃO:** As bothropstoxinas I e II, são fosfolipases A2 (Lys49 e Asp49) encontradas no veneno de Bothrops jararacussu, estão principalmente associadas ao efeito miotóxico no acidente bothropico. A soroterapia para estes casos não contempla os efeitos locais causados pelo veneno. Diversas pesquisas tem apontado para a existência de inibidores naturais destas toxinas, um deles é o ácido gálico, que neutralizou estas toxinas em ensaios in vitro e in vivo. **OBJETIVO:** Este trabalho tem por objetivo avaliar a interação molecular do ácido gálico com estas toxinas, via ressonância plasmônica de superfície. **MÉTODOS:** 30mg do veneno bruto de B. jararacussu foram submetidos a sucessivas etapas cromatográficas de troca catiônica e de fase reversa onde obteve-se as toxinas bothropstoxinas I e II purificadas. Os ensaios de interação foram realizados em um Sistema Biacore T200, onde as toxinas foram imobilizadas sob a superfície de um sensor chip tipo CM5, através do acoplamento amina. **RESULTADOS:** Os ensaios de ligação mostraram que a interação foi muito mais intensa com a bothropstoxinas I, a cinética de interação evidencia um sistema de alta estabilidade com uma constante de afinidade  $KD = 2,82 \times 10^{-6}$  M, o que caracterizam um sistema de associação rápida e uma lenta dissociação, comportamento desejado para um inibidor. A baixa afinidade do ácido gálico pela bothropstoxinas II impossibilitou a realização dos estudos cinéticos com a referida toxina. Este trabalho está licenciado pelo CGEN (010627/2011-1) e IBAMA (27131-2) **CONCLUSÃO:** O ácido gálico apresentou uma significativa interação molecular pela bothropstoxinas I quando comparado com a bothropstoxinas II. A constante de afinidade obtida evidencia um sistema de alta afinidade, ideal para a formação de um complexo de alta estabilidade. Este estudo fornece dados que servem para entender melhor o papel do ácido gálico no processo de neutralização destas miotoxinas em casos de envenenamento causados por acidentes ofídicos.

Palavras-chave: ácido gálico, toxinas e serpentes.

FOMENTO: FIOCRUZ, FINEP, CNPq, CAPES BIONORTE, and INCT/Inpetam.

-R30-

### ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA PARCIAL DE PROTEÍNAS DA ANÊMOMA DO MAR *Condylactis gigantea*

MENDES, N.A.D1; CALDEIRA, C.A.S.1; MOURA, A.A.1; COUTINHO-NETO, A.1; SIMÕES-SILVA, R.1; KAYANO, A.M.1; ROMERO, D.L.2; STABELI, R.G.1; SOARES, A.M.1; CALDERON, L.A.1.

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas a Medicina – CEBio, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ Rondônia e Universidade Federal de Rondônia – UNIR, Porto Velho-RO, Brazil. 2Universidad de La Habana, Cuba

**Introdução:** *Condylactis gigantea* é uma espécie de anêmona bentônica, pertencente a classe Anthozoa. Os indivíduos desta classe possuem na sua peçonha uma fonte de compostos bioativos, com misturas complexas contendo peptídeos e proteínas com diversas propriedades, além de substâncias não protéicas oriundas do metabolismo secundário. **Material e Métodos:** O extrato da anêmona *Condylactis gigantea* foi obtido com a colaboração da Universidad de La Habana, Cuba. O extrato total foi testado para diferentes ensaios tóxicos e enzimáticos, incluindo citotoxicidade sobre células tumorais e estudos de neutralização de venenos de serpentes. Realizou-se o fracionamento de 5,3 mg da peçonha de *C. gigantea* por cromatografia de exclusão molecular utilizando a coluna para Superdex Peptide 10/300, tampão de corrida Tris-HCl 20 mM (pH 7,4), absorvância analisada em 215 e 280 nm. Posteriormente, confeccionou-se géis monodimensionais de 12,5%, da peçonha, seguida da confecção de um gel bidimensional 2D da peçonha de *C. gigantea*. **Resultados e Discussão:** O extrato de *C. gigantea* foi capaz de inibir a atividade tóxica de venenos de serpentes e apresentou atividade antitumoral in vitro. A cromatografia por exclusão molecular demonstrou uma diversidade de compostos protéicos presentes na peçonha com diferentes tamanhos, predominando as proteínas de alto peso molecular. Enquanto que a eletroforese monodimensional da peçonha evidenciou proteínas com a massa molecular aparente entre 7 a 60 kDa. A eletroforese bidimensional demonstrou a presença de proteínas tanto de caráter ácido quanto básico. **Conclusão:** O extrato de *Condylactis gigantea* demonstrou potencial antifídico e antitumoral, e desta forma, o isolamento e a caracterização bioquímica de seus componentes bioativos faz-se necessários para desenvolver futuros protótipos e medicamentos para controle das doenças tropicais negligenciadas, distúrbios de coagulação e tumores malignos.

Palavras-Chave: *Condylactis gigantea*, Anêmona do mar, Cromatografia, 2D SDS-PAGE, efeitos antitumoral e antifídico.

Órgãos Apoiadores: Finep, CNPq, CAPES, FIOCRUZ/Rondonia, BIONORTE, INCT/Inpetam

**-R31 -**

**NANOBODIES OF CAMELID ASSETS AGAINST CROTOXIN, A NEUROTOXIN OF THE SNAKE *Crotalus durissus terrificus***

LUIZ, M.B.1; PRADO, N.R.1; PEREIRA, S.S.1; DILL, L. M.1; KAYANO A.M.1; SOARES, A.M.1; STABELI, R.G.1,2; FERNANDES, C.F.1,3

1Fiocruz Rondônia, Porto Velho, Rondônia, Brasil;

2Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, Rondônia, Brasil;

3Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, Porto Velho, Rondônia, Brasil.

In Brazil, more than 30,000 cases of snakebite envenoming occur each year. From these, about 7,5% of the injuries are caused by snakes of the genus *Crotalus*, which originate a mortality rate of 1.87%. Neurotoxic, nephrotoxic and myotoxic effects of *Crotalus* envenoming are mainly related to the crotoxin (CTX), a dimer formed, via noncovalent interactions, between the phospholipase A2 (CB), basic and enzymatically active, and crotoxin (CA), acid and enzymatically inactive. Treatment in case of envenoming is performed by administering immunobiologics derived from hyperimmunized horses. Besides high cost, due to the need for specialized animal care, and nonlinearity between production batches, these immunoglobulins can cause hypersensitivity reactions. Thus, the search for alternative methods that can minimize the disadvantages of conventional serum therapy has become relevant. Camelids produce antibodies devoid of light chains, in which the antigen recognition region is formed by the single domain called VHH or nanobody. In addition to thermal and pH stability, important for field treatment, nanobodies are one tenth the size of conventional antibodies, cause low immunogenicity, is capable to neutralize animal toxins and can be produced in microorganisms. Exploring these advantages, this work aimed to produce VHH fragments of *Lama glama* that specifically recognize the crotoxin. For this, the phage display technology was employed. After monitoring the immune response of a *Lama glama* immunized with monomers CA and CB and CTX by ELISA, VHHs fragments were amplified by RT-PCR using cDNA synthesized after RNA extraction from peripheral lymphocytes of the animal. The amplified product was inserted into the phagemid (pHEN1) and a VHH library with a titer of  $3.6 \times 10^{12}$  was constructed using *E. coli* TG1. After infection of primary library with helper phage VCSM13, VHHs expressed on the surface of the bacteriophage were selected using immunotubes previously adsorbed with CTX, CA and CB. Two clones recognized CA, while 76 and 58 clones recognized CTX and CB by ELISA, respectively. Clones that showed greater reactivity were sequenced and characterized *in silico*. Further experiments aiming to measure the affinity of the clones (Surface Plasmon Resonance) and to verify the toxin neutralization ability will be performed. According to preliminary results, VHHs anti-CTX could be safe and cost-effective tools to contribute in the treatment of envenoming by *Crotalus* snakes.

Keywords: Nanobodies, VHH, Crotoxin, Serum Therapy, Phage Display.

Financial Agencies: CNPq, CAPES.

**-R32 -**

**FORMAÇÃO DE BIOFILME EM CEPAS DE ESCHERICHIA COLI ENTEROAGREGATIVA (EAEC) ISOLADAS DE CRIANÇAS COM GASTROENTERITE AGUDA NA REGIÃO DE PORTO VELHO/RO**

SILVA, L. A.1; BENEVIDES-MATOS, N.1

1FIOCRUZ Rondônia - Fundação Osvaldo Cruz - Rondônia

A formação de biofilme é uma estratégia de sobrevivência microbiana importante, pois permite que as bactérias resistam à ambientes hostis e possam colonizar novos nichos por vários mecanismos de dispersão. Alguns estudos têm demonstrado que *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC) tem a habilidade de formar biofilme *in vitro*, porém o mecanismo desta ação não está totalmente estabelecido. O objetivo deste estudo foi detectar a capacidade de formação de biofilme em cepas de EAEC isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho/RO. Utilizamos neste estudo um total de 125 isolados de EAEC. Tais amostras foram isoladas de crianças de 0 a 6 anos de idade, admitidas no Hospital Infantil Cosme e Damião (HICD) com quadro clínico de gastroenterite aguda, no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2012. Para a formação do biofilme as amostras foram submetidas ao teste de detecção de biofilme por espectrofotometria. Após coloração com cristal violeta, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 640nm. Através dos valores de absorvância obtidos, as amostras foram classificadas em: não aderente (NA), fracamente aderente (FCA) ou fortemente aderente (FMA). Dos 125 isolados testados 47/125 (37,6%) foram considerados fortemente aderentes, 21/125 (16,8%) fracamente aderente e 39/125 (31,2%) não aderentes. Estes resultados demonstram a existência de cepas formadoras de biofilme nas amostras estudadas, fato que é preocupante, uma vez que esta propriedade é um fator de virulência adicional e um mecanismo de resistência natural da bactéria, tornando-as mais resistentes a ação de agentes químicos e físicos. Além disso, a matriz exopolissacarídica formada no biofilme impede a penetração de agentes antimicrobianos, dificultando a destruição das bactérias e estando relacionada a persistência bacteriana em casos de infecção.

Palavras-chave: biofilme, *Escherichia coli* enteropatogênica, gastroenterite aguda

Agência de fomento: CNPq, IPEPATRO

**-R33-**

**NANOSTRUCTURED SYSTEMS CONTAINING MEMBRANE PROTEINS FROM *PLASMODIUM FALCIPARUM* IN PROTEOLIPOSSOMES TO DETECT MALARIA**

CURY, T.A.C.1; COLHONE, M.C.1; FOTORAN, W.L.2; WUNDERLICH, G.2; STABELI, R.G.3; ZUCOLOTTI, V.4; FILHO, S.A.5; CIANCAGLINI, P.1

1USP-Ribeirão Preto, SP;  
2USP-São Paulo, SP;  
3Fiocruz Rondônia, Porto Velho, RO;  
4USP-São Carlos, SP;  
5UFAM, Manaus, AM, Brazil.

The limitations in immunoassays and molecular diagnosis have motivated the development of integrated electronic biosensors systems that are capable of detecting analytes via specific recognition based upon the interaction between protein and ligands or antigens and antibodies. In this case, obtain total membrane proteins of *Plasmodium falciparum* and reconstitution into liposomes for construction and characterization of biosensors. The merozoite surface protein (strains 133 and 3D7) of *P. falciparum* were solubilized at 0.1, 0.5 and 1% SDS at 4° C or room temperature and was ultracentrifuged for 1 hour. The solubilized protein extract (EPS) was reconstituted in liposomes containing Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC), Dipalmitoyl phosphatidylserine (DPPS) and cholesterol by the co-solubilization method, forming proteoliposomes. Aliquots of all steps obtained were analyzed by SDS-PAGE and Western Blotting, and the amount of proteins was estimated [Colhone et al 2009]. The proteins that were solubilized with 0.5 and 1% SDS had the highest percentage of solubility (about 50%). The empty liposomes exhibited a mean size of 56 nm, while the proteoliposomes composed of protein from strain 3D7; 183 nm and 133; 180 nm. The percentage of incorporation of EPS in the liposomes was also high (approximately 70% for both). The electrophoretic profile of EPS and proteoliposomes showed a variety of proteins with similar distribution between the two samples, indicating an efficient incorporation of the parasite surface proteins into liposomes. Analysis by Western blotting showed that these proteins had immunogenic activity after solubilization and incorporation into liposomes for both strains. Our results indicate an effective incorporation of total proteins in the surface of the parasite in liposomes and these systems may be immobilized on the surface of interdigitated electrodes and used to detect antibodies anti-Plasmodium, suggesting a rapid and accurate method for malaria diagnosis.

Key Words: biosensor, proteoliposome, co-solubilization, .  
Financial Support: CAPES, CNPq and FAPESP.

**-R34-**

**EFFECT OF *Bothrops bilineata* SNAKE VENOM ON NEUTROPHILS FUNCTION**

SETÚBAL, S.1; PONTES, A.1; NERI, N.1; BASTOS, J.1; CASTRO, O.B.1; PIRES, W.2; ZAQUEO, K.D.3; CALDERON, L.A.1,3; STÁBELI, R.G.1,3; SOARES, A.M.1,3; ZULIANI, J.P.1,3

1Laboratório de Imunofarmacologia Aplicada à Saúde, Instituto de Pesquisas em Patologias Tropicais, IPEPATRO/FIOCRUZ-Rondonia, Porto Velho-RO, Brazil;  
2Universidade Federal do Acre, UFAC, Cruzeiro do Sul, AC, Brazil;  
3Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, FIOCRUZ-Rondonia e Departamento de Medicina, Universidade Federal de Rondônia, UNIR, Porto Velho-RO, Brazil.

Introduction: Envenomations caused by different species of *Bothrops* snakes result in severe local tissue damage, with haemorrhage, pain, myonecrosis and inflammation, with the presence of inflammatory cells accompanied by the release of inflammatory mediators. Thus, the present study evaluated the effect of *Bothrops bilineata* venom (BbV) on human neutrophils functions. Methods and Results: Neutrophils were obtained from healthy donors by density gradient method. Neutrophil purity and viability was determined by flow cytometry analysis and MTT reduction. Cytokines production (IL-8 and IL-6) and PGE2 was determined by immunoenzymatic assay. Hydrogen peroxide was measured using phenol red and horseradish peroxidase. NETs release were evaluated by Quant-iT™ Picogreen dsDNA. BbV showed no toxicity on human neutrophils. At non-cytotoxic concentrations, BbV induced a significant increase in hydrogen peroxide production [C:11.21±0.07; BbV (6.2 up to 100g/mL) 20.40±0.52; 25.91±0.35; 26.28±0.72; 42.33±0.935; 47.95±5.39; PMA:47.16±3.48]. Moreover, BbV induced a significant release of IL-6 [C:5.372±0.751; BbV (6.2 up to 100g/mL) 42.40±2.36; 39.66±3.39; 72.31±6.07; 80.33±1.81; 40.60±5.90] and IL-8 (C:6.01±0.11; BbV (12.5 up to 100g/mL) 34.87±2.85; 48.84±4.72; 61.83±4.42; 227.9±15.53] as well PGE2 (C:72.49±7.28; BbV (3.1 up to 100g/mL) 314.5±39.81; 393.0±7.14; 477.2±17.47; 449.8±26.74; 496.7±26.35; 649.3±30.14; PMA:296.9±21.31] by neutrophils. In addition, BbV at 4h incubation induced a significant NETs release (C:100.6±10.02; BbV: 375.3±91.62; 296.6±57.24; 368.2±14.31; 325.2±57.24; 482.6±42.93; 764.4±16.99; PMA:270.1±36-10) and at 15h (C:321.4±34.34; 607.6±26.71; 687.7±49.6; 701.1±36.25; 745.0±41.97; 790.8±76.31; 890.0±72.50; PMA: 1987±57.2). Results represent the mean ± SEM of 4 donors. Conclusion: Together, our results showed that BbV triggers relevant proinflammatory events in human neutrophils.

Financial support: Capes; CNPq.

**-R35-**

### **ISOLATION AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF TWO ACIDIC PHOSPHOLIPASES A2 FROM *Bothrops brazili* SNAKE VENOM**

SOBRINHO, J. C. 1; KAYANO, A. M. 1; SIMÕES-SILVA, R. 1; OLIVEIRA, G. A. 1; DILL, L. S. M. 1; ZAQUEO, K. D. 1; CALDEIRA, C. A. D. S. 1; SILVA, S. L. 2; ZULIANI, J. P. 1; CALDERON, L. D. A. 1; STABELI, R. G. 1; SOARES, A. M. 1

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde - CEBio – FIOCRUZ/RO e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho - RO - Brasil

2Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos -Universidade Federal de São João Del-Rei, Ouro Branco - MG - Brasil

The *Bothrops brazili* is distributed throughout the Amazon region and its venom, like other snakes of this genus, is rich in proteins and bioactive peptides that induce edema, hemorrhage, myotoxicity and interfere in homeostasis. Phospholipases A2 (PLA2, EC 3.1.1.4) are important enzymes present in snake venom and are related with a broad spectrum of physiopathological effects such as neurotoxicity, myotoxicity and inflammatory events. In this work two new acids PLA2 from *B. brazili* venom were isolated and biochemically characterized. The crude venom was fractionated into three chromatographic steps: ion exchange (CM-Sepharose FF®), followed by a hydrophobic interaction (Butyl-Sepharose HP®) and finally, a reverse phase step (C18 Discovery®). The homogeneity and purity of the samples were evaluated by SDS-PAGE, which revealed the presence of single bands of approximately 14 kDa. PLA2 isolated, named Braziliase-I and Braziliase-II, showed catalytic activity on 4N3OBA (4nitro3octanoylbenzoic acid), being classified as members of PLA2 D49 group. Molecular mass of Braziliase-I and Braziliase-II were determined by mass spectrometry showing 13,894.38 Da and 13,869.63 Da respectively. The N-terminal sequence was determined by Edman chemical degradation and showed the following sequence: Braziliase-I: NLWQFEMLMKIALTSGFMFYSSYG CYCGWGGHGRPKDASDRCCFV HDCCYGKVTTCNPKF and the Braziliase-II: NLWQFEMLMKIAKTSGFMFYSSYG CYCGWGGHGRPQDAADRCCFVHDCCYGKVT. The alignment showed high similarity with acidic PLA2 isolated from *B. moojeni* and other snakes from genus *Bothrops*. Two new acids D-49 PLA2 Braziliase-I and II were isolated from *B. brazili* venom, through three chromatographic steps. They showed homogeneous on SDS-PAGE and presented molecular masses and N-terminal sequences compatible with other acid PLA2 isolated from snake venoms. The characterization of snake PLA2 is an important stage for understanding the involvement of these enzymes on pathological symptoms after snakebite, now recognized as a neglected public health problem. This work was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).

Keywords: snake; *Bothrops brazili*; snake venom, phospholipases A2.

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, BIONORTE, SEPLAN-RO and INCT/Inpetam.

**-R36-**

### **FREQUÊNCIA DE MYCOBACTERIUM ABSCESSUS NO ESTADO DE RONDÔNIA NO PERÍODO DE 2008 A 2012**

ALMEIDA, J.L.F. 1; SILVA, V.C. 1; OLIVEIRA, M. S. C. 1,2; MOURA, M.M.F. 1; MENDES DE LIMA, C. A. 1,3

1Universidade Federal de Rondônia;

2Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Rondônia;

3Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia.

Introdução: As micobactérias não tuberculosas (MNT) estão associadas a certos ambientes e surgiram como uma das principais causas de infecções respiratórias e doenças oportunistas. Compreendem mais de 150 espécies amplamente distribuídas em todo o ambiente. O *Mycobacterium abscessus* pertence ao grupo das Micobactérias não tuberculosas de crescimento rápido, normalmente existem no solo e na água, podem causar um amplo espectro de infecções nos seres humanos, como resultado de duas grandes tendências recentes: a associação da infecção com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida e o reconhecimento de que a doença pulmonar por Micobactérias não tuberculosas é encontrada com frequência cada vez maior na população não acometida pelo HIV. Objetivo: Estabelecer a frequência de *M. abscessus* no Estado de Rondônia em relação às demais espécies de micobactérias não tuberculosas. Método: O isolamento foi realizado no Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia, proveniente de amostras respiratórias de 60 pacientes suspeitos de tuberculose pulmonar, no período de 2008 a 2012. Resultado: Foram isoladas 117 amostras positivas para micobactérias não tuberculosas, dessas identificadas como *M. abscessus* (38%), *M. avium* (19%), *M. fortuitum* (12%), *M. intracellulare* (4,3%), outras 12 espécies (13,7%) e (13%) não identificadas. Os pacientes diagnosticados possuíam idade média de 50 anos, sendo mais frequente o gênero masculino com 64,4%. Conclusão: A espécie *M. abscessus* foi predominante na infecção pulmonar. *M. abscessus* é a espécie de micobactéria mais resistente a drogas e exibe taxas de tratamentos não satisfatórios em pacientes com doenças pulmonares. Assim, a rápida identificação e determinação da cepa podem evitar tratamentos errôneos,



tendo em vista que a maioria dos casos infectados por Micobactérias não tuberculosas fizeram tratamento para tuberculose pulmonar.

Palavras-chave: Frequência; Micobactérias Não Tuberculosas; *Mycobacterium abscessus*; Infecção pulmonar.

**- R37 -**

**BIODEGRADABLE MICROPARTICLES FUNCTIONALIZED WITH CROTAMINE ISOLATED FROM CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS AS EXPERIMENTAL THERAPY IN CUTANEOUS LEISHMANIASIS**

MACEDO, S,R,A1; FERREIRA, A,S1; BARROS, N,B1; DILL, L,S,M2; SOARES, A, M2; NICOLETE, R1

1Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Saúde, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ Rondônia, Velho – RO

2Centro de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, Universidade Federal de Rondônia – UNIR, Porto Velho – RO

Leishmaniasis are among the increased incidence of infectious and parasitic diseases in the world. However, the available drugs for the treatment show high toxicity and none of them is sufficiently effective. In the recent years, some studies have described snake venoms, as well as their toxins as compounds with potential antiparasitic activity. The aim of this study was to evaluate in vitro antileishmanial activity of crotamine, a toxin isolated from *Crotalus durissus terrificus*, in solution form and encapsulated in biodegradable polymeric microparticles constituted of Poly Lactic Acid co-glycolic (PLGA). Analysis of molecular interaction between crotamine and PLGA microparticles was performed by Surface Plasmon Resonance (SPR). The microparticles were characterized in vitro by testing their diameters, zeta potential and the encapsulation rate. The viability of promastigote forms as well as murine macrophages exposed to the toxin in solution and encapsulated was assessed by the MTT colorimetric assay. Furthermore, phagocytic index was determined for peritoneal macrophages incubated with microparticles and cell supernatants were collected for determination of TNF- $\alpha$  levels. We also conducted an infection assay using *L. amazonensis*-infected peritoneal macrophages. The results from binding assay showed high interaction between crotamine and PLGA microparticles. The diameters and zeta potential of control particles and those containing crotamine (Ct-MS) were adequate for the assays conducted. The crotamine in solution inhibited approximately 8% of promastigotes after 48 hs and Ct-MS presented a potentiated effect (18%). The particles did not show significant toxicity against macrophages. Ct-MS were more captured by macrophages than control particles leading to increasing TNF- $\alpha$  levels and significant decreasing the numbers of intracellular amastigotes compared to infected macrophages only. The approach presented here opens the possibility to work with safe concentrations of encapsulated toxins, especially crotamine, and to deliver microparticles inside the target cells where they are able to elicit antileishmanial effects.

Keywords: *Leishmania amazonensis*, *Crotalus durissus terrificus*, crotamine, biodegradable microparticles, Therapy complementary / alternative

**- R38 -**

**EFEITO MICROBICIDA DO VENENO DE *Crotalus durissus cascavella***

RODRIGUES, R. F.1; BUTZKE, D. S.1; PALOSCHI, M. V.1; MATOS, N. B.2; ZULIANI, J. P.3; CALDERON, L. A1; STÁBELI, R. G.1; SOARES, A. M.1

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas a Saúde – CEBio/FIOCRUZ-RO/UNIR, Porto Velho - RO

2Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia – CEPEM, Porto Velho – RO

3IPEPATRO/FIOCRUZ RO

**INTRODUÇÃO:** Os estudos bioquímicos de fracionamento do veneno de *Crotalus durissus* revelaram a presença de componentes bioativos como peptídeos, proteínas e enzimas. Através de fracionamento o veneno crotálico evidencia-se quatro principais toxinas denominadas de convulxina, giroxina, crotoxina e crotamina. A partir do isolamento destas toxinas torna-se possível a realização de uma melhor caracterização bioquímica, farmacológica e a avaliação de suas propriedades microbidas. **MÉTODOS:** O fracionamento do veneno foi realizado utilizando uma coluna de exclusão molecular Superdex G-75. As frações foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5%. A atividade coagulante realizada sobre o plasma onde a Dose Coagulante Mínima (DCM) é definida com concentrações diversas do veneno bruto. A atividade LAAO do veneno bruto foi determinada através da reação com L-leucina. A atividade fosfolipásica foi realizada com o veneno bruto sobre o substrato ácido 4-nitro-3-octanoyloxy-benzóico (NOB). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida por teste de suscetibilidade de microdiluição sobre cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* cultivados em caldo Luria Bertani (LB). **RESULTADOS:** O fracionamento do veneno resultou em três frações correspondentes a crotoxina 23 kDa, convulxina 70 kDa e giroxina 30 kDa. O veneno possui baixa atividade coagulante DCM de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  em 1 minuto, possui moderada atividade fosfolipásica com 37,62 U/min e considerável atividade LAAO com 1,059 U/min. A (CIM) do veneno e crotoxina contra *S. aureus* e *E. coli* foi de 80  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  e para *P. aeruginosa* não houve inibição. **CONCLUSÃO:** O veneno de *C. d. cascavella*, apresentou um potencial de coagulação insuficiente, considerável atividade fosfolipásica e atividade de L-aminoácido oxidase significativa. O veneno bruto e crotoxina mostrou ter um potencial bactericida. Contudo, os resultados obtidos são preliminares necessitando a repetição dos testes,

melhorias e adaptações de técnicas.

Palavras-chave: Venenos de serpentes, Crotoxina, *Crotalus durissus cascavella*, Microbicida.

FOMENTO: Faculdade São Lucas, CNPq, CEBio, FIOCRUZ, BIONORTE, CEPEN, CAPES, FINEP, INPeTam, SEPLAN-RO.

**-R39-**

**BBMP-1 A NEW METALLOPROTEINASE FROM BOTHROPS BRAZILI VENOM WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY**

KAYANO, A.M.1; SIMÕES SILVA, R.1; ZAQUEO, K.D.1; OLIVEIRA, G.A.1; SOBRINHO, J.C.1; MOREIRA DILL, L.S.1; MEDEIROS, P.S.M.1; AGUIAR, A.C.C.2; NICOLETE, R.1; BARROS, N.B.1; MALTAROLLO, V.G.3; HONORIO, K.M.3,4; DA SILVA, S.L.5; CALDERON, L.A.; SOARES, A.M.1; STÁBELI, R.G.1

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Universidade Federal de Rondônia, UNIR, Porto Velho-RO, Brasil

2Universidade Federal de São João Del Rei, UFSJ, Ouro Branco-MG, Brasil

3Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André-SP, Brasil

4Escola de Artes, Ciências e Humanidades, USP, São Paulo-SP, Brasil

5Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ Minas, Belo Horizonte-MG, Brasil

Introduction: Snake venoms are comprised of a complex mixture of components, in which we highlight the proteins. Snake venom metalloproteases (SVMPs) are zinc-dependent enzymes, the main responsible for the bleeding at the site of bite and by the systemic hemostatic changes arising from the consumption of fibrinogen and interaction with other coagulation factors. Methods and Results: The metalloproteinase named BbMP-1 was isolated from *B. brazili* venom after a single chromatographic step on CM-Sepharose®. This protease showed monomeric conformation, pI 6.4 and molecular mass of 22,933.22 Da. The partial amino acid sequence showed high similarity with other SVMPs, chiefly among class P-I SVMPs. Molecular modeling showed that the BbMP-1 has a typical conformation of snake venom metalloproteinases with an ellipsoidal shape and two subdomains, besides presenting the conformation of the Zn<sup>2+</sup> binding region. In tests on azocasein was observed limited stability with significantly reduction on enzymatic activity after exposure to pH below 5.0 or temperatures above 45 °C. Moreover the enzymatic activity was inhibited by EDTA and DTT, showing dependence for metallic ion (Zn<sup>2+</sup>) and disulfide bridge to maintenance of catalytic activity. The BbMP-1 presented fibrinogenolytic activity on A $\alpha$  chain and in a lesser extent on B $\beta$  chain, being classified as a  $\alpha$ -fibrinogenase. The antimicrobial activity in vitro on *P. falciparum* and *L. amazonensis* (promastigotes) were evaluated, being noted IC<sub>50</sub> 3,2  $\pm$  2,0  $\mu$ g/mL and 41,7  $\mu$ g/mL respectively. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2). Conclusion: The approaches worked out in this study may help in the understanding of the pathophysiological effects induced by this toxin group. Moreover, the biotechnological potential of BbMP-1 was evidenced by the demonstration of its antiplasmodial and antileishmania activity, noting that is the first time that it was described for this component of snake venoms.

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, BIONORTE, SEPLAN-RO and INCT/INPeTam.

**-R40-**

**PURIFICATION AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF A PROTEIN FROM AMAZON Bothrops atrox SNAKE VENOM WITH AFFINITY TO CHYMOTRYPSIN**

CALDEIRA, C.A.S.1; DILL, L.S.M.1; COUTINHO-NETO, A.1; GUIMARÃES, C.L.S.1; REGO, T.B.1; OLIVEIRA, G.A.O.1; SIMÕES-SILVA, R.1; SOBRINHO, J.C.1; SERBINO, N.M.B.1; CALDERON, L.A.1; STÁBELI, R.G.1; SOARES, A.M.1

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho-RO, Brazil

Introduction: A new protein with affinity to bovine chymotrypsin was identified from amazon *Bothrops atrox* snake venom, which was partially purified and characterized. Objective: The present study purpose is to investigate a protein with affinity to chymotrypsin present in the venom of *B. atrox*. Methods and Results: This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2). Approximately 25 mg of crude venom was dissolved in 1mL of milli-Q water and them fractionated using a Superdex™ Peptide 10/300 GL column (1 x 30 cm) connected to an ÄKTA System (GE Healthcare). The column was equilibrated with 20mM Tris-HCl buffer, pH 7.4. The purification was performed with an isocratic gradient at a flow rate of 0.5 ml/min monitored at 215/280 nm. Seven fractions were obtained and assayed with immobilized chymotrypsin using a Surface Plasmon Resonance system (Biacore T200, GE Healthcare), in order to evaluate the interaction and affinity between the chymotrypsin and protein present in the fractions. Chymotrypsin was immobilized by amine coupling in a CM5 sensor chip. Only the fraction A1 showed interaction presenting a response of approximately 50 RU. In order to obtain high amounts of this protein to perform kinetic assay, affinity chromatography was performed using bovine chymotrypsin immobilized to Sepharose 4B resin pre-activated (GE Healthcare) equilibrated with 20mM Tris-HCl buffer, pH 7.4, under a flow of 1mL/min with segmented gradient monitored at 280 nm. The eluted fraction

was analyzed by SDS-PAGE 15% under denaturing conditions, showing an apparent mass of approximately 10kDa. Conclusions: A new chymotrypsin binder was identified in *B. atrox* venom, potentially an enzyme inhibitor. However, enzymatic assay will be performed in order to confirm our hypothesis.

Key words: Chymotrypsin, Surface Plasmon Resonance-SPR, snake venom, *Bothrops atrox*.  
Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, BIONORTE, SEPLAN-RO and INCT/Inpetam

**-R41-**

### **ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE FOSFOLIPASE A2 MIOTÓXICA DO VENENO DA SERPENTE *Bothrops atrox***

OLIVEIRA, G.A<sup>1</sup>; KAYANO, A.M<sup>1</sup>; LOPES, J.A<sup>1</sup>; ZAQUEO, K.D<sup>1</sup>; SETUBAL, S.S<sup>1</sup>; SOBRINHO, J.C<sup>1</sup>; SILVA, R.S<sup>1</sup>; DILL, L.S.M<sup>1</sup>; NETO, A.C<sup>1</sup>; CALDEIRA, C.A.S<sup>1</sup>; ZULIANI, J.P<sup>1</sup>; CALDERON, L.A<sup>1</sup>; SOARES, A.M<sup>1</sup>; STÁBELI, R.G<sup>1</sup>

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho-RO, Brasil.

Introdução: *Bothrops atrox* é uma serpente endêmica da região amazônica e é responsável pela maioria dos acidentes ofídicos notificados nesta região. Componentes dos venenos de serpentes têm atraído a atenção devido as suas propriedades bioquímicas, funcionais e estruturais. Eles são compostos por uma mistura complexa de substâncias inorgânicas (íons metálicos) e orgânicas (carboidratos, nucleosídeos, peptídeos e proteínas), entre os quais se destacam a fosfolipase A2 (PLA2). Estes componentes são membros de uma família de pequenas proteínas que partilham a mesma função enzimática, caracterizado por hidrólise específica de fosfolipídios na posição sn-2. Objetivos: Isolar e caracterizar bioquimicamente uma miotoxina com estrutura PLA2 de *B. atrox*. Material e Métodos: Este estudo foi autorizado pelo CGEN / CNPq (010627/2011-1) e IBAMA (27131-2). 50 mg de veneno bruto foi submetido à cromatografia de permuta de cátions, resultando em treze picos que foram avaliados por SDS-PAGE a 12,5%. Resultados: Verificou-se que a fração 11 obteve um bom grau de pureza confirmada por cromatografia de fase reversa em coluna C-18. A massa molecular foi determinado por espectrometria de massa MALDI-TOF demonstrando uma massa de 13,850 kDa. O efeito miotóxico foi avaliado por níveis de creatina quinase (CK) em soro de camundongos (22-25g) que receberam injeção intramuscular (25µg/50µL) do veneno bruto ou proteína isolada na mesma concentração. Os resultados obtidos mostraram que a proteína isolada representou atividade de 46,7% em comparação com veneno bruto. Conclusão: A miotoxina foi obtida com elevado grau de pureza após dois passos cromatográficos. Ela também mostrou efeito miotóxico significativo quando comparado com veneno bruto. Esta toxina pode servir como um modelo para uma melhor compreensão de seu papel no processo de envenenamento provocado por acidentes ofídicos deste gênero.

Palavras-chave: *Bothrops atrox*, Purificação, Fosfolipase A2, Miotoxina.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, BIONORTE, SEPLAN-RO and INCT/Inpetam.

**-R42-**

### **ISOLATION AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF A NEW SERINEPROTEASE FROM *BOTHROPS BRAZILI* SNAKE VENOM**

ZAQUEO, K. D.<sup>1</sup>; KAYANO, A. M.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, G. A.<sup>1</sup>; SILVA, R. S.<sup>1</sup>; SOBRINHO, J. C.<sup>1</sup>; DILL, L. S. M.<sup>1</sup>; DOMINGOS, T. F. S.<sup>2</sup>; FULY, A. L.<sup>2</sup>; SILVA, S. L.<sup>3</sup>; ZULIANI, J. P.<sup>1</sup>; CALDERON, L. A.<sup>1</sup>; SOARES, A. M.<sup>1</sup>; STÁBELI, R. G.<sup>1</sup>

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho-RO; 2Universidade Federal Fluminense, UFF, Niterói-RJ; 3Universidade Federal de São João Del Rei, UFSJ, Campus Alto Paraopeba, Ouro Branco-MG.

Introduction: The snake venoms are complex mixtures of organic and inorganic components predominantly constituted by peptides and proteins. They are rich in proteolytic enzymes, such as serineproteases that affect the hemostatic system through several mechanisms. This research reports the isolation, biochemical and enzymatic characterization of the first serineproteases from *Bothrops brazili* snake venom. Methods and Results: The isolation process consisted of two consecutive chromatographic steps (Benzamidine Sepharose and reverse phase in C2/C18) both steps in Akta Purifier10, GE, resulting in one new serine proteases, named BbrzSP-I. Estimation by SDS-PAGE under denaturing conditions showed that, it has about 39kDa. The N-terminal sequence was acquired by Edman degradation and BbrzSP-I showed the sequence (VIGGDECNINEHPFLAFMYSPQYFCGMTLINQEWVLTAAH CDKTYMRI). The multiple alignment showed high identity compared to other thrombin-like enzymes from snake venoms. The coagulant potential upon plasma was tested using 200µL of citrated human plasma and different doses of the enzymes, the new enzyme showed a minimum coagulant dose (MCD) of 0.75µg (±0.05, n=3). In order to determine the influence of inhibitors on the coagulant activity, the enzyme was preincubated with benzamidine 5mM and 10mM, PMSF 1mM and 3mM (serineprotease inhibitors), or with EDTA 5mM and 10mM (metalloprotease inhibitors) and saline or DMSO (control), the BbrzSP-I activity only was significantly reduced after preincubation with specific

serineprotease inhibitors. The ability of BbrzSP-I to hydrolyze chromogenic substrates S-2238 (for thrombin-like enzymes) and S-2288 (for serine proteinase) was tested and to determine the influence of inhibitors, the same inhibitors above listed were tested. The enzyme was able of hydrolyzing different chromogenic substrates and its activity was significantly reduced after preincubation with specific serineprotease inhibitors. To evaluate the influence of pH on enzyme activity, the protein was preincubated in a pHs range and after this, the activity was checked upon S-2238, observing a high pH stability. Conclusion: Based on its biochemical and enzymatic characteristics, BbrzSP-I was identified as a first thrombin-like enzyme report from Bothrops brazili snake venom. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).

Keywords: Snake venom; thrombin-like; serineprotease.

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, BIONORTE, SEPLAN-RO and INCT/INPeTAM.

**- R43 -**

#### **NOVAS ABORDAGENS NA INTERAÇÃO MOLECULAR ENTRE INTERCRO E CROTAPOTINA POR RESSONÂNCIA PLASMÔNICA DE SUPERFÍCIE - RPS**

DILL, L.S.M.1; BUTZKE, D.S.1; OLIVEIRA, G.A.1; AGRA, S.D.S.1; SILVA, R.S.1; ZAQUEO, K.D.1; CALDEIRA, C.A.S. 1; KAYANO, A.M. 1; VIEIRA, L.F.2; GIGLIO, J.R. 2; CALDERON, L.A.1; STABELI, R.G.1; SOARES, A.M.1

1Centro de Estudo de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho-RO, Brazil;

2Departamento de Bioquímica, FMRP-USP, Ribeirão Preto-SP, Brazil.

Introdução: Crotoxina é uma  $\beta$ -neurotoxina heterodimérica que representa cerca de 60% do veneno crotálico e é responsável pelos efeitos neurotóxicos, miotóxicos e insuficiência renal aguda (IRA) em casos de envenenamento. É composta por duas subunidades: um componente ácido não-tóxico e não-enzimático (crotapotina ou CA), e um componente básico e tóxico (CB ou PLA2). A intercro (IC) também é um componente do veneno crotálico e estudos anteriores sugerem que a mesma é uma fosfolipase A2 não-complexada, não apresentando interação para CA. Este trabalho teve como objetivo investigar os níveis de interações entre IC e CA, utilizando a técnica de ressonância plasmônica de superfície. Métodos e Resultados: Foram realizados ensaios de interação num sistema Biacore T200 (GE Healthcare), em que as PLA2, CB e intercro foram imobilizados na superfície do chip sensor CM5 utilizando o método de acoplamento de amina em células de fluxo separadas. Os ensaios de interação foram realizadas em tampão HBS-P (HEPES 0,1 M, NaCl 1,5 M, 0,5% w/w tensoativo P20, pH 7,4) a 37 °C. Os resultados mostraram que a crotapotina também interage com a intercro no mesmo nível da interação de CB, como ilustram as constantes de afinidade KD (CB =  $8,36 \times 10^{-7}$  M / IC =  $8,90 \times 10^{-7}$  M). Estes resultados sugerem, pela primeira vez a existência de interação entre intercro e crotapotina, contrastando o observado em outros estudos publicados. Além disso, também apresenta, na primeira vez, o comportamento cinético entre o CA e CB subunidades, ilustrando o comportamento dinâmico de todas as isoformas de ambas as subunidades. Este estudo foi autorizado pelo CGEN / CNPq (010627/2011-1) e IBAMA (27131-2). Conclusão: Os resultados mostram uma nova abordagem para a existência de interação entre intercro e crotapotina e o comportamento cinético entre CA e CB subunidades.

Palavras-chave: Intercro e crotapotina; Veneno Crotálico; Ressonância Plasmônica de Superfície –RPS. Fomento: FIOCRUZ/Rondônia, INCT/Inpetam, CNPq, CAPES, FINEP, BIONORTE, e SEPLAN-RO.

**- R44 -**

#### **ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE UMA L-AMINOÁCIDO OXIDASE DO VENENO DE *Calloselasma rhodostoma* E AVALIAÇÃO DA SUA AÇÃO ANTITUMORAL, ANTIPARASITÁRIA E BACTERICIDA**

AGRA, S. D. S; KAYANO, A. M.1; TELES, C. B. G. 2; NICOLETE, R.2; MEDEIROS, P. S. M.2; NOMIZO, A.3; SOARES, A. M.1,2

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio/FIOCRUZ, Porto Velho-RO; 2Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz Rondônia, Porto Velho-RO; 3FCFRP-USP, Ribeirão Preto-SP.

Os venenos de serpentes chamam atenção quanto as suas inúmeras propriedades bioquímicas, funcionais e estruturais, os torna possíveis modelos biotecnológicos para o desenvolvimento de possíveis agentes terapêuticos para doenças consideradas negligenciadas, tropicais e para infecções causadas por bactérias multirresistentes, com a vantagem de possuírem menor toxicidade e menor custo. *Calloselasma rhodostoma* é uma serpente característica da Ásia e seu veneno é composto por diversas classes de enzimas, sendo a L-aminoácido oxidase (LAAO) a mais abundante, sendo esta uma flavoenzima responsável pela desaminação oxidativa de um L-aminoácido a um  $\alpha$ -cetoácido, produzindo amônia e peróxido de hidrogênio. Visando a compreensão de seu mecanismo de ação, o objetivo deste estudo foi o isolamento e caracterização bioquímica e funcional da LAAO do veneno de *C. rhodostoma* denominada de Cr-LAAO. Para o isolamento, o veneno bruto foi submetido à cromatografia de exclusão molecular sobre uma coluna Superdex G-75 (GE Healthcare) e depois a uma resina de troca aniônica DEAE-Sepharose (GE Healthcare). Subsequente foi realizado

Eletroforese em Gel de Poliacrilamida 12,5 % e submetido a espectrômetro Axima TOF<sup>2</sup>. As atividades bactericidas da enzima foram realizadas por meio de testes de difusão em discos com as bactérias Gram positivas *Staphylococcus aureus* e Gram negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Para avaliar a atividade em células tumorais e atividade citotóxica da toxina sobre as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* utilizou-se o método colorimétrico de citotoxicidade pelo MTT. O efeito sobre *Plasmodium falciparum* foi avaliado por ensaio de ELISA utilizando anticorpos anti-HRP II (Histidine Rich Protein II). Foi obtida a Cr-LAAO com massa molecular de 59.311 kDa. A enzima apresentou alta citotoxicidade sobre células tumorais SKBR3 nas três concentrações de 0.01ug/mL (39±1.5), 0.1ug/mL (71 ± 2.0) e 1.0ug/mL (86 ± 1,5). Na atividade bactericida, apresentou sensibilidade para todas as bactérias testadas. A Cr-LAAO apresentou 70% de atividade leishmanicida na concentração de 50ug/mL. Na atividade plasmonicida a toxina apresentou IC50 de 3.26.ug/mL com o Índice de seletividade de 19.3. A Cr-LAAO foi isolada em elevado grau de pureza e demonstrou significativo efeito biológico, que em parte, são creditados aos efeitos secundários do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), produzidos durante a reação enzimática.

Palavras chave: Venenos de serpentes; *Calloselasma rhodostoma*; L-aminoácido oxidase. Fomento: FIOCRUZ, FINEP, CNPq, CAPES, BIONORTE, e INCT/Inpetam.

**- R45 -**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF INHIBITORS SERINOPROTEASES SEED *INGA EDULIS***  
MONTEIRO, J.R.N.<sup>1</sup>; SERBINO, N.M.B.<sup>1</sup>; MOREIRA-DILL, L.S.<sup>1</sup>; CHEVREUIL, L.R.<sup>2</sup>; SOARES, A. M.<sup>1</sup>; STABELI, R.G.<sup>1</sup>; GONÇALVES, J.F.C.<sup>2</sup>; CALDERON, L.A.<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>Center of Applied Biomolecular Studies in Medicine, UNIR, Porto Velho, Rondônia;

<sup>2</sup>Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, INPA, Amazonas, Rondônia;

Amazon legume seeds are a rich source of bioactive little explored in the face of its great diversity. These seeds have inhibitors of serine proteinases that participate in processes of plant defense against predators and pathogens, may provide lessons for the development of new therapies for infectious and degenerative diseases. This study aims at the isolation and characterization of peptide inhibitors of serine proteinases present in seeds of *Inga edulis*. Seeds were collected in Cruzeiro do Sul, Acre, and subjected to spray drying and mill and extraction with alcohol-saline (NaCl 0.15 mol / L in increasing ethanol concentrations: 0, 10, 30, 50, 70 and 90%) in a ratio 1g/10 ml for 16 hours. After centrifugation and collection of supernatants was conducted tests with both inhibitory activity against trypsin and bovine chymotrypsin according to the method of Erlanger. The extracts obtained with 0 and 10 % ethanol showed high inhibitory activity against trypsin and the extract was 90 % ethanol showed high inhibitory activity against chymotrypsin. The ethanolic extract showed 90% peptide content, which was confirmed by mass spectrometry, revealing a peptide mass close to 1 kDa. Analysis by Surface plasmon resonance using Biacore T200 showed high affinity peptide content of this extract with chymotrypsin. The extract was subjected to affinity chromatography using resin Sepharose 4B with immobilized chymotrypsin, resulting in two fractions, was confirmed in a new Biacore T200 analysis in which the second fraction contained the peptide inhibitors. The second fraction was subjected to chromatography on a column of C12 reverse phase resulted in 27 peaks, using a third Biacore T200 analysis showed that the peaks 1, 4, and 5 had affinity for chymotrypsin. Currently, the mass spectra obtained by "collision induced dissociation" are interpreted to obtain the primary sequence of the peptides.

Key-Words: Chymotrypsin, Trypsin, Inhibitor, *Inga edulis*

Supported by: FINEP, CNPQ, CAPES, INCT/INPETAM, BIONORTE, and FIOCRUZ

**- R46 -**

**PRELIMINARY CHARACTERIZATION OF TRYPSIN INHIBITORS FROM *Rhaebo guttatus* (ANURA: BUFONIDAE) PAROTOID VENOM**

BISPO-REGO, T.<sup>1</sup>; MOREIRA-DILL, L.S.<sup>1</sup>; GUIMARÃES, C.L.S.<sup>1</sup>; CALDEIRA, C.A.S.<sup>1</sup>; DINIZ-SOUSA, R.<sup>1</sup>; MONTEIRO, J. R. N.<sup>1</sup>; STÁBELI, R.G.<sup>1</sup>; SOARES, A.M.<sup>1</sup>; CALDERON, L.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ/RO

<sup>2</sup>Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho-RO, Brasil.

Introduction: *Anura bufonidae* present one pair of agglomerates glands at the post-orbital region on either side of the body, named as parotoid. This structure is responsible by the secretion, production and storage of the venom, which essentially contains steroids, biogenic amines, proteins and peptides. In this context, the objective of this study was the preliminary characterization of trypsin inhibitors from *Rhaebo guttatus* poisonous secretion. Methods and Results: The secretion was obtained by manual stimulation of the glands and then lyophilized and stored at -86 °C. 50 mg of the lyophilized crude venom was solubilized in TFA 0.1% (600µl) and ACN/TFA 0.1% (400 µl) and them injected in a Phenomenex Júpiter C18 column (5µ, 300Å 250x10.000 nm) connected to an AKTA System (GE Healthcare). The proteins were eluted with a growing gradient of acetonitrile at a flow rate of 2.0 mL/min and monitored simultaneously at 280 and 215 nm. Five main fractions were obtained. The fractions obtained were lyophilized and then solubilized in running buffer HBS-P buffer (1x) in order to assay a surface

plasmon resonance system (Biacore T200, GE Healthcare) in order to evaluate the affinity of trypsin immobilized on flow cell using sensor chip CM5 to fractions. The fractions named Rg02, Rg03 and Rg04 showed interaction with trypsin showing RU of approximately 60, 25 and 40, respectively. Inhibitory activity was performed in a spectrophotometer at 410 nm monitored the product p-nitroanilide liberated from reaction, the crude venom was stored with the enzyme trypsin and BAPNA reading demonstrated approximately 48% reduction in enzyme activity. Conclusions: It was concluded that the venom of *Rhaebo guttatus* parotoid gland present trypsin inhibitors. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).

Keywords: Trypsin inhibitors, Purification, Bufonidae, *Rhaebo guttatus*, Frog.

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, SEPLAN-RO, BIONORTE, and INCT/Inpetam.

**- R47 -**

**PARTIAL CHARACTERIZATION OF CAMELID NANOBODIES AGAINST BOTHROPSTOXIN-II, A MYOTOXIN FROM *Bothrops jararacussu***

SILVA, M. P.1; PRADO, N. D. R.1; PEREIRA, S. S.1; KAYANO, A. M.1; SOARES, A. M.1; STABELI, R. G.1; FERNANDES, C. F. C.1,2

1Fundação Oswaldo Cruz Rondônia, Porto Velho, Rondônia, Brasil;

2Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, Porto Velho, Rondônia, Brasil.

Introduction: Envenomation by snakebites represents a relevant public health problem in tropical countries due to their severity and sequelae. In Brazil, about 73.5% of reported accidents are caused by snakes of the *Bothrops* genus. The bothropic venom consists of several bioactive peptides and proteins that can cause systemic and local effects, as blood coagulation, hemorrhage, edema, and tissue necrosis. Snakebite therapy is performed using equine hyperimmune serum, which demonstrates low efficacy in reversing the local effects of envenoming. Camelids produce functional immunoglobulins devoid of light chains, in which the antigen binding site is formed by the single domain called VHH or nanobody. Besides their small size, high solubility, and better ability to recognize sites normally inaccessible to conventional antibodies, nanobodies are not affected by variations in temperature and pH, which are important advantages in field treatment. So, this work aimed to produce and characterize VHHs against the Bothropstoxin II (BthTX-II), a myotoxin isolated from the *Bothrops jararacussu* venom. Methodology and Results: To produce nanobodies, the phage display technology was used. VHHs regions were isolated by PCR using peripheral lymphocyte cDNA obtained from one camelid previously immunized with BthTX-II. The amplicons were recombined into a phagemid using TG1 *E. coli* strain to construct a phage antibody immune library. After infection by M13K07 helper phage, VHHs were displayed fused to phage coat protein III and the selection step was performed with immobilized BthTX-II. Six clones recognized BthTX-II specifically by ELISA. After purification by affinity chromatography, all clones were able to recognize specifically venoms obtained from snakes of the *Bothrops* genus. Further experiments aiming to verify the capability of selected VHHs to neutralize BthTX-II and the venom activity are being performed. Conclusion: The identified VHHs could be a new tool to help the treatment of envenoming caused by *B. jararacussu*, or by other snakes of the *Bothrops* genus.

Keywords: VHH, snake venom, Bothropstoxin II, Phage Display.

Financial support: CNPq, CAPES

**- R48 -**

**SELEÇÃO DE FRAÇÕES SUBCELULARES DE *L. AMAZONENSIS* PARA CONFECÇÃO DE UMA VACINA BIOTECNOLÓGICA PELA INTERAÇÃO COM IGG DE CAMUNDONGOS INFECTADOS ENSAIADA POR RESSONÂNCIA PLASMÔNICA DE SUPERFÍCIE**

RIBEIRO, J. G.1; TRAJANO, A.1; BARROS, N. B.1; MOREIRA, L. S.2; SOARES, A.M.2; NICOLETE, R.1

1Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Saúde - Fiocruz-RO.

2Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde – CEBio.

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é considerada uma doença negligenciada, para a qual ainda não se dispõe de uma vacina efetiva ou um diagnóstico eficiente e cujo arsenal quimioterápico é ameaçado pelo surgimento de resistência por agentes etiológicos como *Leishmania amazonensis*. A LTA é endêmica em países pobres e possui alta incidência no Brasil. As vacinas desenvolvidas a partir de frações nativas de parasitas têm levado a identificação de subunidades antigênicas definidas e ao desenvolvimento de tecnologia de adjuvantes vacinais. O objetivo do presente trabalho foi obter frações subcelulares de *L. amazonensis* para subsidiar a seleção de uma delas para encapsulamento em micropartículas de PLGA e avaliação de imunomodulação protetora. O critério de seleção será interação de afinidade das frações avaliada por Ressonância Plasmônica de Superfície utilizando um chip imobilizado com IgG's policlonais purificadas de soro de camundongos Balb/C infectados experimentalmente por *L. amazonensis*. Quatro frações subcelulares de *L. amazonensis* foram obtidas por extração diferencial com detergentes utilizando um kit comercial (S-PEK Calbiochem®): fração citosólica, fração de membranas plasmática e organelares, fração nuclear e fração enriquecida em citoesqueleto. Quatro frações foram obtidas por centrifugação diferencial sem uso de detergentes: fração obtida

a 6 000g, fração obtida a 16 000g, fração obtida a 35 000g e o sobrenadante do último passo de centrifugação que corresponde ao conteúdo citosólico. Um aspecto avaliado da ressonância plasmônica de superfície é o efeito dos tampões de extração no sinal do sensorgrama. Frações proteicas extraídas com detergente foram submetidas à troca de tampões por ultra-filtração (Amicon cutoff 10 kDa, Milipore®), ou precipitação com TCA/Acetona e serão comparadas aos extratos obtidos em ausência de detergente. Estes extratos serão caracterizados posteriormente por Immuno-blotting com marcadores subcelulares. Os resultados preliminares evidenciam que uma fração rica em proteínas do citoesqueleto possui maior afinidade pelo ligante. Experimentos de immuno-blotting do perfil eletroforético das frações subcelulares com soro de camundongos infectados por *L. amazonensis* estão em andamento e irão fornecer subsídios para a seleção da fração prioritária para desenvolvimento de um protótipo vacinal.

Palavras-chave: *L. amazonensis*, vacinas, frações-antigênicas, interação-antígenos-anticorpos, ressonância-plasmônica-de-superfície.

Fomento: Fiocruz e CNPq.

- R49 -

#### **ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE GORGULHOS *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1758) ENCONTRADOS EM UMA UNIDADE ESCOLAR DE CACOAL, RONDÔNIA**

DÁVILA, P. H. BERTÃO.<sup>1</sup>; TAKAHASHI, H. S.<sup>1</sup>; OSHIRO, M. H. B.<sup>1</sup>; NUNES, B. R. C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zoologia e Microbiologia – FACIMED, Cacoal, RO,

<sup>2</sup>Departamento de Parasitologia e Microbiologia Médica – FACIMED, Cacoal, RO.

Estudos sobre a análise microbiológica em insetos considerados pragas nas lavouras e no meio doméstico são pouco frequentes, podendo ocasionar problemas sérios a saúde humana. Em áreas consideradas de risco como alas hospitalares e cozinhas escolares, insetos apresentam riscos potenciais como disseminadores de fungos e bactérias sendo de grande importância o controle e a vigilância sanitária do local. No Brasil e em certas partes do mundo o Coleóptera Curculionidae conhecido como gorgulho-do-arroz da espécie *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1758) são pragas que causam danos irreversíveis a lavoura podendo também ocasionar problemas a saúde pública. Este trabalho teve como objetivo descrever os fungos encontrados em *Sitophilus oryzae* em uma unidade escolar do município de Cacoal, Rondônia. As análises foram feitas através da coleta por meio líquido dos microorganismos em potes estéreis e em seguida transferidos para meios de cultura em triplicata de Agar nutriente. Após o crescimento foram feitas as preparações de lâminas para posterior identificação a microscópio óptico. Como resultado obteve-se fungos apelidados popularmente por “fungos de armazenamento” do gênero *Aspergillus sp*, *Penicillium sp* e *Fusarium sp*. Em produtos processados, contaminantes que são resultado da infestação externa de insetos não são facilmente detectados ou removidos. As larvas, quando sofrem ecdise, deixam uma casca/pele, que pode contaminar os produtos processados. Gorgulhos e larvas de mariposas/traças depositam a maior parte de seus excrementos no interior do grão. Os principais danos causados por eles são: diminuição do poder germinativo das sementes, descoloração e manchas nos grãos, aquecimento e emboloramento, alterações da composição química dos grãos, produção de toxinas e perda da matéria seca.

Palavras-Chave: Análise Microbiológica, insetos, saúde humana.

- R50 -

#### **PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA PARCIAL DE PROTEÍNAS DO VENENO DE SERPENTE *Bothrops (Bothriopsis) bilineata***

OLIVEIRA, G.A.1; KAYANO, A.M.1; SILVA, R.S.1; ZAQUEO, K.D.1; CALDEIRA, C.A.S.1; DILL, L.S.M1; CALDERON, L.A. 1; SOARES, A.M. 1; STÁBELI, R.G. 1

<sup>1</sup>Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho-RO, Brasil.

Introdução: *B. bilineata* é uma serpente arborícola presente na Amazônia brasileira e colombiana. Os venenos de serpentes são constituídos por uma mistura complexa de várias proteínas ativas que induzem alterações sistêmicas e locais, tais como edema, hemorragia, mionecrose, proteólise, hemólise, hipotensão e coagulação. Exemplos são as aminas biogênicas, peptídeos ou proteínas, tais como fosfolipase A2, esterases, as proteases, as enzimas e as lectinas liberando cininas. O objetivo deste estudo foi o isolamento e caracterização parcial de proteínas presentes no veneno da serpente *B. bilineata*. Esta pesquisa foi autorizada pelo CGEN / CNPq (010627/2011-1) e IBAMA (27131-2). Métodos e Resultados: 5 mg de veneno em bruto foi solubilizado em 1 mL de TFA 0,1% e submetidos a cromatografia de fase reversa em uma coluna C18, 25 x 4.6 cm (Supelco). A amostra foi eluída em um gradiente de acetonitrila crescente (0-100%) com um fluxo de 1 mL/min utilizando um sistema AKTA (GE Healthcare). Foram coletados trinta e cinco picos e analisados por SDS - PAGE a 12,5% e por espectrometria de massa MALDI - TOF. As análises mostraram cinco frações (13, 14, 15, 16 e 18) com elevado grau de pureza e de massas próximas a 14 kDa. Foi realizada eletroforese bidimensional, com o veneno bruto, que apresentou cerca de 80% do teor proteico largamente distribuído na região de pH ácido. A

pequena quantidade de proteínas apresentadas na região básica de pH possuem massas moleculares próximas a 17 kDa. Conclusão: De acordo com os estudos preliminares baseados nas observações feitas em gel mono e bidimensional, observou-se que o veneno de *B. bilineata* pode ser rico em fosfolipases A2, como descrito na literatura. A análise por eletroforese em duas dimensões (2D) mostrou que aproximadamente 80-90% do veneno da serpente *B. bilineata* possui caráter ácido. Outros ensaios, a fim de identificar a sequência N-terminal e a caracterização de atividades biológicas estão em progresso.

Palavras-chave: *Bothriopsis bilineata*, Proteínas, Purificação, Proteômica.

Apoio: FIOCRUZ/Rondônia, INCT/Inpetam, CNPq, CAPES, FINEP, BIONORTE, e SEPLAN-RO.

**- R51 -**

### **CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL E BIOQUÍMICA DE UMA NOVA FOSFOLIPASE A2 NEUROTÓXICA PRESENTE NA PEÇONHA DE CORAL AMAZÔNICA (*MICRURUS SPIXII*)**

TERRA, A. L. C.1; KAYANO, A. M.1; SIMÕES-SILVA, R.1; MONTEIRO, J. R.1; CALDEIRA, C. A. S1; NASCIMENTO, M. J. M.1; BUTZKE, D. S.1; MEDEIROS, P. S.D.1; NICOLETE, R.1; CALDERON, L. A.1; STÁBELI, R. G.1; SOARES, A. M.1

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, Universidade Federal de Rondônia, UNIR, Porto Velho-RO, Brasil.

Os ofídios *Micrurus spixii* são endêmicos região norte do Brasil e alguns países circunjacentes. Os venenos elapídicos tem ação curarimiméticas sendo a paralisia cardiorrespiratória a causa de óbito nos casos de acidente. Nestas peçonhas, as fosfolipases A2 (PLA2) são componentes muito ativos e tem ação neurotóxica, causando também outras alterações fisiológicas importantes como distúrbios coagulatórios discretos e indução a resposta inflamatória. Neste trabalho, utilizou-se peçonha bruta liofilizada de *Micrurus spixii*. Foi feita cromatografia de fase reversa (HPLC) em 5mg, resultando em 12 frações principais. Foram submetidas à análise eletroforética em gel de poliacrilamida 12,5%, demonstrando massas moleculares entre 5 e 80 kDa. Nestas amostras foi feita espectrometria de massa (MALDI) onde se obtiveram massas entre 13067.3 e 13363.8 Da. Escolheu-se a amostra 13 (com 13363.8 Da) para testar atividade fosfolipásica que foi comprovada nos dois ensaios utilizando reação colorimétrica (com 4N3OBA) e também por hemólise indireta. Quando sequenciada, obteve-se um fragmento com 60 aminoácidos com mais de 65% de compatibilidade com as PLA2 já descritas. Com o veneno bruto foi feito ainda: teste de coagulação sobre o plasma humano citratado (doses de 5 e 10 µg) com baixa atividade coagulante. No teste de edematogênese, aos 20 minutos, 5 µg causaram formação de edema inflamatório mais intenso nas patas dos camundongos inoculados durante o tempo do experimento. No teste de miotoxidade em 2 horas, o efeito máximo obtido por 5 µg foi em 3.500 (U/L). Na atividade neurotóxica feita com fragmentos de tecido muscular e nervoso de aves e mamíferos, aos 40 minutos houve bloqueio máximo e equivalente na atividade de contração muscular acetilcolina-dependente usando 10 µg/mL de peçonha em ambas os fragmentos de tecido. No teste de citotoxicidade, amostras com 50 µg de veneno bruto demonstraram toxicidade de 28% sobre cultura de células infectadas com *L. amazonensis* sendo superior ao Pentamidina (droga usada como controle positivo, com 20% de toxicidade). Para citotoxicidade sobre culturas de células de hepatoma humano (HepG2) e a atividade anti-plasmodial, foram necessários mais de 200 µg de veneno para atingir MDL50%, sendo este pouco eficaz em relação ao controle positivo anti-malária (Cloroquina). Os resultados obtidos nos experimentos de caracterização bioquímica, estrutural, assim como as atividades biológicas confirmam a presença de uma nova PLA2 neurotóxica.

Fomento: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, SEPLAN-RO, BIONORTE, and INCT/Inpetam.

**- R52 -**

### **EFFECT OF L-AMINO ACID OXIDASE FROM *Calloselasma rhodostoma* SNAKE VENOM ON HUMAN NEUTROPHILS**

PONTES, A1; SETÚBAL, S1; XAVIER, C1; LACOUTH, F1; KAYANO, A2; PIRES, W1,3; MONTEIRO, N1; BOERI, N1; SILVA, S2,4; CALDERON, L2; STÁBELI, RG1,2; SOARES, A2; ZULIANI, JP1,2\*

1Laboratório de Imunofarmacologia Aplicada à Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ Rondônia, Porto Velho-RO;

2Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde (CEBio), Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, Universidade Federal de Rondônia, UNIR, Porto Velho-RO;

3Universidade Federal do Acre, UFAC, Cruzeiro do Sul, AC;

4Faculdade São Lucas, Porto Velho-RO.

Snake venoms are rich in enzymes such as hyaluronidase, phospholipase A2, proteolytic enzymes, phosphodiesterases and L-amino acid oxidase (LAAO). This enzyme is found in a variety different organisms such as bacteria, fungi, green algae, and snake venoms. LAAO contributes to the toxicity of the venom due to the production of hydrogen peroxide during the oxidation reaction. The exact biological functions of LAAOs on leukocytes are still unknown. The present study was designed to address the effects of LAAO from *Calloselasma rhodostoma* on isolated human neutrophils. Neutrophils were obtained from healthy donors by density gradient method. Viability was evaluated through the reduction of MTT. Superoxide and hydrogen peroxide was



measured by reduction of NBT and phenol red, respectively. Cytokine production was measured by immunoenzymatic assay. LAAO showed no toxicity on neutrophils. LAAO induced superoxide anion by neutrophils at 100,50,25,12.5µg/mL (0.78±0.04; 0.77±0.02; 0.79±0.02;0.75±0.01; 0.72±0.02). This toxin is also able to stimulate the production of hydrogen peroxide in neutrophils at 100µg/mL (0.87±0.08) and 50µg/mL (0.59±0.06). Moreover, the incubation of LAAO and phenol red medium did not induce the production of hydrogen peroxide. Furthermore, LAAO was able to stimulate neutrophils to release IL-8 at 100µg/mL (447.4±46.03) and 50µg/mL (251.4±28.74) and TNF-α at 100µg/mL (61.36±12.20) and release Nets 100,50,12.5µg/mL (223±10.31; 244.4±30.94; 234± 82.50) . The results represent the mean ± SEM of 5 donors. LAAO stimulates neutrophils and triggers these cells to induce relevant pro inflammatory events.

Financial support: Capes; CNPq.

#### **-R53-**

#### **STUDY OF THE ONTOGENETIC VARIATION OF BOTHROPS ATROX BY PROTEOMIC ANALYSIS, PORTO VELHO-RO, WESTERN AMAZON**

COUTINHO-NETO, A.1; CALDEIRA, C.A.S.1; SILVA, R.S.1; ZAQUEO, K.D.1; SOUSA, R.D.1; SOUZA, T.F.D.2; MOURA, L.A.2; FULY, A.L.2; CALDERON, L.A.1; SOARES, A.M.1; STÁBELI, R.G.1

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, CEBio, FIOCRUZ Rondônia e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho-RO;

2Universidade Federal Fluminense, Niteroi-RJ.

Poisoning accidents with snakes in the Amazon are mostly, around 90%, by *Bothrops atrox*, with rapidly evolving hemorrhagic and necrosis. The ontogenetic characterization of the studied specimens shows the relevance of snakebite overlooked that produces individuals with physical damage or irreparable consequences. Thus, understanding the molecular differences from snake venoms of a particular geographic region are very important for discovery of bioactive antiophidic molecules to reduce the damage and physiological symptoms related to snake venom poisoning. These protein profile differences may contribute to the discovery of biological and/or medical relevant prototypes. The venom from *Bothrops atrox* (adult, young and newborns) from Porto Velho-RO investigated in this work were analyzed by RP-HPLC on C-18 column, mono and two-dimensional electrophoresis and biological activities; evidencing the ontogenetic specimens of this region of the Brazilian Amazon. The venoms of young and newborns analyzed had higher phospholipase activity (hemolytic), hemorrhagic, myotoxic, coagulant and procoagulant activity on chromogenic substrate, compared to adults. We used the Ettan IPGphor-3 Isoelectric Focusing Unit of GE to perform the focusing of 2D strips. The detection of the chromatographic profile of soluble peptide and protein constituents of the venom was obtained using the HPLC on ÄKTA™ purifier GE. The flow rate for elution of the constituents was 1.0 mL/min in the following gradient of eluent B: 5% for 10 min, 5-15% in 20 min, 15-45% during 120 min, 45-70% for 20 min, 70-100% in 10 min. The major venom proteins of this kind appeared on two-dimensional gels, protein bands with molecular weights of 92, 52, 37 and 21 kDa. The chromatographic profiles of these venoms, showed variations regarding the retention times and expressed proteins in the samples, differing from other profiles *Bothrops atrox* data, supporting ontogenetic and geographic variation that occurs with *Bothrops* distributed throughout the Brazilian Amazon. Present data on the variations in protein poisons corroborate the ontogenetic intra-and inter-species of snake venoms from *B. atrox*, adult, young and newborn.

Key-words: Bothrops, Proteomic, snakes

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, SEPLAN-RO, BIONORTE, and INCT/Inpetam.

#### **-R54-**

#### **SCREENING A POTENTIAL MYOTOXIN INHIBITOR FROM HUMIRANTHERA AMPLA USING SURFACE PLASMON RESONANCE (SPR)**

CORREA, EA1; MOREIRA- DILL, L S1; GUIMARÃES, C L1; KAYANO, AM1; SILVA, R S1; ZAQUEO, K D 1; OLIVEIRA, GA1; SOBRINHO, J C1; CALDERON, LA1; STABELI, R G1; SOARES, AM1

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas a Saúde, CEBio, FIOCRUZ – Rondônia e Departamento de Medicina, UNIR, Porto Velho - RO, Brazil

*Bothrops* sp venoms are rich in proteic components, including myotoxins, a class of toxins presenting a phospholipase A2 structure. Among them, BthTX-I is a PLA2 homologue (Lys-49) found in *B. jararacussu* venom and responsible for several symptoms resulting from snake bites such as pain, edema and myotoxicity. *Humirianthera ampla* (Miers) Baehni, commonly known as surucucaína, has been used by traditional populations as an alternative therapy against snake bites. The present work aimed the screening of BthTX-I binder from *H. ampla* roots extracts by surface plasmon resonance (SPR) assay using a Biacore T200 (GE Healthcare) and to evaluate, in murine models, the inhibition of myotoxic effect of BthTX-I by selected fractions from aqueous extract of *H. ampla* roots. The aqueous extract, obtained from about 1kg of dried and pulverized root (collected in the city of Porto Velho, RO), was submitted to several chromatographic steps on silica column and separated into several fractions. These fractions were then subjected to screening by SPR analysis where

BthTX-I was immobilized on the surface of a CM5 sensor chip type by amine coupling. The results of binding assays showed that the fraction HaM(aq)reE1-3 presented significant interaction, with a high affinity. To evaluate the neutralization of myotoxic effects induced by BthTX-I, the seric levels of Creatine Kinase (CK) were determined after intra-muscular injection of HaM(aq)reE1-3/BthTX-I at several ratios. The results showed that the selected fraction at the ratio 1:3 (HaM(aq)reE1-3 / BthTX-I; w/w) was able to inhibit the toxic effect at about 64%. This data indicates a potential antiophidic effect of *H. ampla* and shows how SPR could be useful for screening of enzyme inhibitor. Furthermore, these results provides further understanding on the role of the *H. ampla* in the neutralization of myotoxins during poisoning by snakebites.

Keywords: Humiranthera ampla; Surface Plasmon Resonance; Myotoxin

Financial support: CAPES, CNPq, FIOCRUZ, FINEP, SEPLAN-RO, BIONORTE, and INCT/Inpetam

**-R55-**

### **CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE INFECÇÃO OCULTA EM AMOSTRAS COM ANTI-HBc ISOLADO EM PORTO VELHO, RONDÔNIA**

SANTOS, A.O.1,3; PEREIRA, A.V.C.1; BOTELHO, L.F.2; VIRGENS, J.1; VIEIRA, D.S.1; VILLALOBOS SALCEDO, J.M.1,3

1FIOCRUZ-RO – Fundação Oswaldo Cruz RO

2IPEPATRO - Instituto de Pesquisa em Patologias Tropicais de RO

3Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR

Introdução: A infecção oculta pelo HBV é caracterizada pela presença do DNA viral no soro de indivíduos com HBsAg negativo. O verdadeiro papel do anti-HBc isolado como fator predisponente para infecção oculta pelo HBV ainda não está claro. Objetivo: Este estudo tem por objetivo o acompanhamento clínico e a caracterização molecular deste padrão sorológico, contribuindo para o conhecimento da infecção oculta e elucidar os mecanismos moleculares relacionados na alteração da expressão de diferentes proteínas pelo vírus da hepatite B. Materiais e métodos: Foram selecionados 40 indivíduos com anti-HBc isolado e DNA HBV detectável no soro. Estes indivíduos foram acompanhados através de testes sorológicos e moleculares realizados a cada seis meses, por um período de dois anos. A princípio para os ensaios moleculares foi utilizado um conjunto de primers que amplificam um fragmento de 109pb da região pré-core. Posteriormente, as amostras positivas na primeira PCR, foram submetidas a amplificação do genoma completo do HBV e sequenciamento para análise de mutações e genotipagem. As sequências obtidas foram alinhadas com sequências referências extraídas do GenBank utilizando software Clustal X e depois editadas com Se-Al software. Análises filogenéticas foram realizadas pela Cadeia de Markov Monte Carlo abordagem (MCMC), utilizando BEAST v.1.5.3. Resultados preliminares: Até o momento foram selecionadas 23 amostras com anti-HBc total isolado, dessas 12 amostras foram positivas na primeira PCR e submetidas a amplificação do genoma completo. Conclusão: No Estado de Rondônia não dispomos de estudos relacionados com este perfil sorológico, motivo pelo qual é importante sua implantação para esclarecer fatores correlacionados, como por exemplo, até que ponto estes indivíduos podem ser portadores de hepatite B oculta e evoluírem para Doença Hepática Crônica, ou ainda, participarem da transmissão desta virose na Região Amazônica, ou pelo contrario, resultar em um padrão sorológico sem maior importância clínica-epidemiológica.

Suporte financeiro: FIOCRUZ/RO, CEPEN/RO

**-R56-**

### **EFEITO MICROBICIDA DE L-AMINOÁCIDO OXIDASE ISOLADA DO VENENO DE *Crotalus atrox***

PALOSCHI, M. V.1; BUTZKE, D. S.1; RODRIGUES, R. F.1; KAYANO, A. M.1; MATOS, N. B.2; STÁBELI, R. G.1; SOARES, A. M.1

1Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas a Saúde – CEBio/FIOCRUZ-RO/UNIR, Porto Velho – RO;

2Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia – CEPEN, Porto Velho - RO

O veneno das serpentes do gênero *Crotalus* é constituído por peptídeos e proteínas, como as L-aminoácido oxidases (LAAOs). A LAAO é caracterizada por uma massa molecular entre 120 a 150 kDa, além de um pl ácido ou básico com valores de 4,4 a 8,8. O amplo espectro biológico da LAAO é um grande alvo para estudos focalizados no desenvolvimento de potenciais produtos microbicidas. Assim, o objetivo desse trabalho foi isolar e caracterizar bioquimicamente a LAAO do veneno de *Crotalus atrox* e avaliar sua ação bactericida contra Gram positivas e Gram negativas. O isolamento da LAAO foi realizado em duas etapas cromatográficas, utilizando uma coluna de exclusão molecular e posteriormente uma coluna de troca iônica. As frações foram avaliadas em eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5% em condições desnaturantes. A atividade coagulante realizada sobre o plasma humano citratado foi definida pela Dose Coagulante Mínima (DCM) com concentrações diversas de proteínas e veneno bruto. Para determinar a atividade de LAAO foi utilizado proteína isolada e veneno bruto em solução contendo L-leucina. A atividade fosfolipásica foi realizada com o veneno bruto sobre o substrato ácido 4-nitro-3-octanoyloxy-benzóico (NOB). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada por teste de suscetibilidade de microdiluição sobre cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus*

aureus cultivados em caldo Luria Bertani (LB). A cromatografia inicial obteve 6 picos, evidenciando na Fração 1 a presença de uma massa molecular entre 46 e 56 kDa. A segunda etapa obteve 10 picos, sendo que o pico 9 apresentou-se puro com aproximadamente 46 kDa. O veneno bruto e LAAO apresentaram baixo potencial de coagulação, com um DCM de 38 µg para a LAAO e >40 µg para o veneno bruto. A atividade fosfolipásica apresentou uma atividade de 28,35 U/min. A atividade de LAAO apresentou para o veneno bruto 0,164 U/min e a Fração 1 mostrou 0,176 U/min. A atividade bactericida para *S. aureus* apresentou uma CIM de >40 µg/µL de LAAO e veneno bruto. Para *E. coli*, a concentração de 200 µg/µL de LAAO apresentou atividade, porém o veneno bruto não mostrou efeito bactericida. A LAAO do veneno de *C. atrox* foi purificada em duas etapas cromatográficas. A LAAO isolada e veneno bruto mostraram um potencial coagulante baixo. Quanto a atividade bactericida, as concentração de LAAO e veneno bruto possuem efeito para *S. aureus*, e para *E. coli*, somente a LAAO teve ação.

Palavras-chaves: L-aminoácido oxidase, Veneno de Serpente, Microbicida.

Fomento: Faculdade São Lucas, CNPq, CEBio, FIOCRUZ, CEPem, CAPES, FINEP, BIONORTE, INPeTAm.

- R57 -

### **MICROBIOTA ORAL DE UMA JIBÓIA (*Boa constrictor*, Linnaeus, 1758) MANTIDA EM CATIVEIRO NO MUNICÍPIO DE CACOAL, RONDÔNIA**

BERTÃO, D.P.H.<sup>1</sup>; TAKAHASHI, H. S.<sup>1</sup>; OSHIRO, M. H. B.<sup>1</sup>; SILVESTRO, E. M.<sup>2</sup>

1Departamento de Zoologia e Microbiologia – FACIMED, Cacoal, RO,

2Departamento de Parasitologia e Microbiologia Médica – FACIMED, Cacoal, RO.

Estudos sobre a microbiota oral em serpentes brasileiras são raros e registrados principalmente em serpentes das famílias Viperidae e Elapidae (ambas com peçonha). No Brasil, as serpentes da família Boidae são as mais criadas em cativeiros e por possuírem hábitos alimentares generalistas acabam tendo uma variação na microbiota oral devido a diversos fatores como: sazonalidade, região, alimentação e ambiente. Este trabalho teve por objetivo descrever as bactérias encontradas na cavidade oral de uma Jibóia (*Boa constrictor*) mantida em cativeiro no município de Cacoal, Rondônia. As análises foram feitas através da coleta da mucosa oral da serpente por meio de swabs esterilizados transferindo-os para meio de cultura em triplicata de Agar Nutriente, Agar Sabouraud e e Agar Macconkey. Após o crescimento foram feitas as colorações Gram nas colônias encontradas na superfície das placas, para posterior identificação bioquímica usando teste de oxidase e catalase. Uma amostra de cada coleta foi utilizada na identificação microbiológica. Como resultado obteve-se cocos Gram positivos do gênero *Staphylococcus sp.*, e espécies Gram Negativas como *Proteus vulgaris*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Raoultella ornithinolytica* e *Serratia marcescens*. A bactéria anaeróbia, *Bacteroides fragilis*, também foi identificada na mucosa oral da jibóia, sendo todas as amostras catalase positivas. Houve também o crescimento de fungos do gênero *Aspergillus sp* e *Penicillium sp* em todas as placas de Agar Nutriente com presença de conídios. Algumas das bactérias descritas acima são encontradas na cavidade oral de algumas serpentes peçonhentas, como é o caso do *Staphylococcus sp.* encontrado também em serpentes da família Elapidae e Viperidae. As serpentes mesmo não sendo venenosas devem ser consideradas quanto à infecção por fungos e bactérias durante o acidente, pois podem estar associadas a doenças em humanos.

Palavras-Chave: Análise. Microbiota. Jibóia.

- R58 -

### **CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DO VÍRUS DA HEPATITE DELTA ISOLADOS DE PACIENTES DA AMAZÔNIA OCIDENTAL, BRASIL**

BOTELHO L.F.<sup>1 2 3</sup>. DOS SANTOSA.O<sup>1 2 3</sup>. VILLALOBOS-SALCEDO J.M<sup>1 2 3</sup>. VIEIRAD.S.

1Laboratório Plataforma Técnica, Fundação Oswaldo Cruz Rondônia, Brasil – FIOCRUZ-RO.

2Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia, Brasil – CEPem.

3Universidade Federal de Rondonia, Brasil – UNIR. Porto Velho, Rondônia.

A hepatite delta é uma doença infecciosa viral grave causada pelo vírus da hepatite delta (HDV) que conduz a uma inflamação dos hepatócitos mais progressiva. A hepatite delta é altamente endêmica em vários países Africanos, na região Amazônica e no Oriente Médio, sendo sua prevalência baixa em países industrializados, exceto no Mediterrâneo. A diversidade genética viral está relacionada com a origem geográfica dos isolados, até o momento foram identificados oito genótipos classificados de HDV-1 à HDV-8, sendo o HDV-3 responsável por epidemias de hepatite grave e fulminante comum na América do Sul. O HDV-3 é prevalente na Amazônia brasileira. Esse genótipo está aparentemente relacionado à maior agressividade do HDV. Recentemente foi isolado o HDV-8 na zona rural do estado do Maranhão (Brasil) em dois indivíduos nativos. O objetivo da pesquisa é caracterizar os genótipos do HDV isolados de pacientes da Amazônia brasileira. O RNA HDV de foi extraído do soro de 100 amostras de pacientes do Ambulatório de Hepatites Virais do Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia e convertido em cDNA. O cDNA foi amplificado através de Nested-PCR um

fragmento de 406bp. Para a determinação do genótipo foi aplicado o RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), digerindo 15uL de amplicom (para cada enzima) com XhoI e SmaI. O perfil dos fragmentos resultante da digestão enzimática foi observado em gel de agarose de 3%. O perfil esperado para o HDV-1 é um fragmento de 318bp digerido com XhoI e outro fragmento de 225bp digerido com SmaI. O perfil esperado para HDV-3 é um fragmento de 382bp digerido com XhoI e outra de 306bp digerido com SmaI. Foram selecionadas 10 isolados para confirmação por sequenciamento e filogenia. Das 100 amostras analisadas foram genotipadas 54 isolados de que apresentavam positividade para o RNA HDV, onde 50 destes isolados apresentaram um perfil de digestão enzimática para o HDV-3 e 4 apresentaram um perfil para o HDV-1. Na comparação entre o RFLP e sequenciamento não houve divergências. A presença do HDV-3 não é uma surpresa, pois isso já foi amplamente descrito e relacionado com a região da Amazônia Ocidental em literaturas anteriores. Contudo, embora o HDV-1 já tenha sido isolado na região, existiam controvérsias a respeito da circulação desse genótipo. Este estudo mostrou a prevalência do HDV-3 na Amazônia ocidental.

Palavras chaves: HDV, Genotipagem, PCR-RFLP.

Suporte financeiro: Fiocruz Ronônia, CEPEM e UNIR.

## Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia

Aluna: SILVANA DANTAS DA SILVA AGRA; Orientador: ANDREIMAR MARTINS SOARES. **Isolamento e Caracterização Bioquímica de uma L-Aminoácido oxidase do veneno de Calloselasma rhodostoma e Avaliação da sua Ação Antitumoral, Antiparasitária e Bactericida.** Os venenos de serpentes chamam atenção quanto as suas inúmeras propriedades bioquímicas, funcionais e estruturais, os torna possíveis modelos biotecnológicos para o desenvolvimento de possíveis agentes terapêuticos para doenças consideradas negligenciadas, tropicais e para infecções causadas por bactérias multirresistentes, com a vantagem de possuírem menor toxicidade e menor custo. Calloselasma rhodostoma é uma serpente característica da Ásia e seu veneno é composto por diversas classes de enzimas, sendo a L-aminoácido oxidase (LAAO) a mais abundante, sendo esta uma flavoenzima responsável pela desaminação oxidativa de um L-aminoácido a um  $\alpha$ -cetoácido, produzindo amônia e peróxido de hidrogênio. Visando a compreensão de seu mecanismo de ação, o objetivo deste estudo foi o isolamento e caracterização bioquímica e funcional da LAAO do veneno de C. rhodostoma denominada de Cr-LAAO. Para o isolamento, o veneno bruto foi submetido à cromatografia de exclusão molecular sobre uma coluna Superdex G-75 (GE Healthcare) e depois a uma resina de troca aniônica DEAE-Sepharose (GE Healthcare). Subsequente foi realizado Eletroforese em Gel de Poliacrilamida 12,5 % e submetido a espectrômetro Axima TOF<sup>2</sup>. As atividades bactericidas da enzima foram realizadas por meio de testes de difusão em discos com as bactérias Gram positivas Staphylococcus aureus e Gram negativas Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa. Para avaliar a atividade em células tumorais e atividade citotóxica da toxina sobre as formas promastigotas de Leishmania amazonensis utilizou-se o método colorimétrico de citotoxicidade pelo MTT. O efeito sobre Plasmodium falciparum foi avaliado por ensaio de ELISA utilizando anticorpos anti-HRP II (Hystidine Rich Protein II). Foi obtida a Cr-LAAO com massa molecular de 59.311 kDa. A enzima apresentou alta citotoxicidade sobre células tumorais SKBR3 nas três concentrações de 0.01ug/mL ( $39 \pm 1.5$ ), 0.1ug/mL ( $71 \pm 2.0$ ) e 1.0ug/mL ( $86 \pm 1.5$ ). Na atividade bactericida, apresentou sensibilidade para todas as bactérias testadas. A Cr-LAAO apresentou 70% de atividade leishmanicida na concentração de 50ug/mL. Na atividade plasmonicida a toxina apresentou IC50 de 3.26.ug/mL com o índice de seletividade de 19.3. A Cr-LAAO foi isolada em elevado grau de pureza e demonstrou significativo efeito biológico, que em parte, são creditados aos efeitos secundários do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), produzidos durante a reação enzimática.

Aluno: NESTOR DANDREA; Orientador: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON E RODRIGO GUERINO STABELI. **Isolamento e Caracterização Bioquímica Parcial de Proteínas da Anêmona do Mar Condylactis gigantea.** Condylactis gigantea é uma espécie de anêmona bentônica, pertencente a classe Anthozoa. Os indivíduos desta classe possuem na sua peçonha uma fonte de compostos bioativos, com misturas complexas contendo peptídeos e proteínas com diversas propriedades, além de substâncias não proteicas oriundas do metabolismo secundário. Material e Métodos: A peçonha da anêmona Condylactis gigantea foi obtida a partir do banco de venenos do CEBio (Centro de Estudos em Biomoléculas Aplicadas a Saúde). Realizou-se o fracionamento de 5,3 mg da peçonha de C. gigantea por cromatografia de exclusão molecular utilizando a coluna para Superdex Peptide 10/300, tampão de corrida Tris-HCl 20 mM (pH 7,4), absorvância analisada em 215 e 280 nm. Posteriormente confeccionou-se géis monodimensionais de 12,5%, da peçonha, seguida da confecção de um gel bidimensional 2D da peçonha de C. gigantea. This study has been authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2). Resultados e Discussão: A cromatografia por exclusão molecular demonstrou uma diversidade de compostos proteicos presentes na peçonha com diferentes tamanhos, predominando as proteínas de alto peso molecular. Enquanto que a eletroforese monodimensional da peçonha evidenciou proteínas com a massa molecular aparente entre 7 a 60 kDa. A eletroforese bidimensional demonstrou a presença de proteínas tanto de caráter ácidos quanto básico por meio do pI (ponto isoelétrico). Conclusão: O presente trabalho tem por intuito finalizar caracterização bioquímica de todas as proteínas presentes na peçonha de C. gigantea, bem como realizar atividade bactericida, leishmanicida, plasmonicida, anti-trombótica e anti-tumoral, conforme as suas ações bioativas, e com a finalidade de desenvolver protótipos e medicamentos para controle das doenças infecciosas, distúrbios de coagulação e tumores malignos.

Aluno: ANGELO LAURENCE COVATTI TERRA; Orientador: LEONARDO DE AZEVEDO CALDERÓN. **Caracterização funcional e bioquímica de uma nova Fosfolipase A2 neurotóxica presente na peçonha de coral amazônica (Micrurus spixii).** Os ofídios Micrurus spixii são endêmicos região norte do Brasil e alguns países circunjacentes. Os venenos elapídicos tem ação curarimiméticas sendo a paralisia cardiorrespiratória a causa de óbito nos casos de acidente. Nestas peçonhas, as fosfolipases A2 (PLA2) são componentes muito ativos e tem ação neurotóxica, causando também outras alterações fisiológicas importantes como distúrbios coagulatórios discretos e indução a resposta inflamatória. Neste trabalho, utilizou-se peçonha bruta liofilizada de Micrurus spixii. Foi feita cromatografia de fase reversa (HPLC) em 5mg, resultando em 12 frações principais. Foram submetidas à análise eletroforética em gel de poliacrilamida 12,5%, demonstrando massas moleculares entre 5 e 80 kDa. Nestas amostras foi feita espectrometria de massa (MALDI) onde se obtiveram massas entre 13067.3 e 13363.8 Da. Escolheu-se a amostra 13 (com 13363.8 Da) para testar atividade fosfolipásica que foi comprovada nos dois ensaios utilizando reação colorimétrica (com 4N3OBA) e também por hemólise indireta. Quando sequenciada, obteve-se um fragmento com 60 aminoácidos com mais de 65% de compatibilidade com as PLA2 já descritas. Com o veneno bruto foi feito ainda: teste de coagulação sobre o plasma humano citratado (doses de 5 e 10  $\mu$ g) com baixa atividade coagulante. No teste de edematogênese, aos 20 minutos, 5  $\mu$ g causaram formação de edema inflamatório mais intenso nas patas dos camundongos inoculados durante o tempo do experimento. No teste de miotoxicidade em 2 horas, o efeito máximo obtido por 5  $\mu$ g foi em 3.500 (U/L). Na atividade neurotóxica feita com fragmentos de tecido muscular e nervoso de aves e mamíferos, aos 40 minutos houve bloqueio máximo e equivalente na atividade de contração muscular acetilcolina-dependente usando 10  $\mu$ g/ml de peçonha em ambas os fragmentos de tecido. No teste de citotoxicidade, amostras com 50  $\mu$ g de veneno bruto demonstraram toxicidade de 28% sobre cultura de células infectadas com L. amazonenses sendo superior ao Pentam (droga usada como controle positivo, com 20% de toxicidade). Para citotoxicidade sobre culturas de células de hepatoma humano (HepG2) e a atividade anti-plasmodial, foram necessários mais de 200  $\mu$ g de veneno para atingir MDL50%, sendo este pouco eficaz em relação ao controle positivo anti-malária (Cloroquina). Os resultados obtidos nos experimentos de caracterização bioquímica, estrutural, assim como as atividades biológicas confirmam a presença de uma nova PLA2 neurotóxica.

Aluna: DIANA BUTZKE; Orientador: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON E RODRIGO GUERINO STABELI. **Novas Abordagens na Interação Molecular entre Intercro e Crotapotina por Ressonância Plasmônica de Superfície - RPS.** Crotapotina é uma  $\beta$ -neurotoxina heterodimérica que representa cerca de 60% do veneno crotálico e é responsável pelos efeitos neurotóxicos, miotóxicos e insuficiência renal aguda (IRA) em casos de envenenamento. É composta por duas subunidades: um componente ácido não-tóxico e não-enzimático (crotapotina ou CA), e um componente básico e tóxico (CB ou PLA2). A intercro (IC) também é um componente do veneno crotálico e estudos anteriores sugerem que a mesma é uma fosfolipase A2 não-complexada, não apresentando interação para CA. Este trabalho teve como objetivo investigar os níveis de interações entre IC e CA, utilizando a técnica de ressonância plasmônica de superfície. Métodos e Resultados: Foram realizados ensaios de interação num sistema Biacore T200 (GE Healthcare), em que as PLA2, CB e intercro foram imobilizados na superfície do chip sensor CM5 utilizando o método de acoplamento de amina em células de fluxo separadas. Os ensaios de interação foram realizados em tampão HBS-P (HEPES 0,1 M, NaCl 1,5 M, 0,5% w/w tensoativo P20, pH 7,4) a 37 ° C. Os resultados mostraram que a crotapotina também interage com a intercro no mesmo nível da interação de CB, como ilustram as constantes de afinidade KD (CB =  $8,36 \times 10^{-7}$  M / IC =  $8,90 \times 10^{-7}$  M). Estes resultados sugerem, pela primeira vez a existência de interação entre intercro e crotapotina, contrastando o observado em outros estudos publicados. Além disso, também apresenta, na primeira vez, o comportamento cinético entre o CA e CB subunidades, ilustrando o comportamento dinâmico de todas as isoformas de ambas as subunidades. Este estudo foi autorizado pelo CGEN / CNPq (010627/2011-1) e IBAMA (27131-2). Conclusão: Os resultados mostram uma nova abordagem para a existência de interação entre intercro e crotapotina e o comportamento cinético entre CA e CB subunidades.

## Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia

Aluna: THUANNY CURY; Orientador: PIETRO CIANCAGLINI. **Nanostructured systems containing membrane proteins from *Plasmodium falciparum* in proteoliposomes to detect Malaria.**

The limitations in immunoassays and molecular diagnosis have motivated the development of integrated electronic biosensors systems that are capable of detecting analytes via specific recognition based upon the interaction between protein and ligands or antigens and antibodies. In this case, obtain total membrane proteins of *Plasmodium falciparum* and reconstitution into liposomes for construction and characterization of biosensors. The merozoite surface protein (strains 133 and 3D7) of *P. falciparum* were solubilized at 0.1, 0.5 and 1% SDS at 4° C or room temperature and was ultracentrifuged for 1 hour. The solubilized protein extract (EPS) was reconstituted in liposomes containing Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC), Dipalmitoylphosphatidylserine (DPPS) and cholesterol by the co-solubilization method, forming proteoliposomes. Aliquots of all steps obtained were analyzed by SDS-PAGE and Western Blotting, and the amount of proteins was estimated [Colhone et al 2009]. The proteins that were solubilized with 0.5 and 1% SDS had the highest percentage of solubility (about 50%). The empty liposomes exhibited a mean size of 56 nm, while the proteoliposomes composed of protein from strain 3D7; 183 nm and 133; 180 nm. The percentage of incorporation of EPS in the liposomes was also high (approximately 70% for both). The electrophoretic profile of EPS and proteoliposomes showed a variety of proteins with similar distribution between the two samples, indicating an efficient incorporation of the parasite surface proteins into liposomes. Analysis by Western blotting showed that these proteins had immunogenic activity after solubilization and incorporation into liposomes for both strains. Our results indicate an effective incorporation of total proteins in the surface of the parasite in liposomes and these systems may be immobilized on the surface of interdigitated electrodes and used to detect antibodies anti-Plasmodium, suggesting a rapid and accurate method for malaria diagnosis.

Aluna: MARJORIE JESSICA MELO NASCIMENTO; Orientador: LEONARDO DE AZEVEDO CALDERÓN. **Estudo de Interação Molecular de Inibidores Naturais de Bothropstoxina I e II Via Ressonância Plasmônica de Superfície.** As bothropstoxinas I e II, são fosfolipases A2 (Lys49 e Asp49) encontradas no veneno de Bothrops jararacussu, estão principalmente associadas ao efeito miotóxico no acidente bothropico. A soroterapia para estes casos não contempla os efeitos locais causados pelo veneno. Diversas pesquisas tem apontado para a existência de inibidores naturais destas toxinas, um deles é o ácido gálico, que neutralizou estas toxinas em ensaios in vitro e in vivo. OBJETIVO: Este trabalho tem por objetivo avaliar a interação molecular do ácido gálico com estas toxinas, via ressonância plasmônica de superfície. METODOS: 30mg do veneno bruto de *B. jararacussu* foram submetidos a sucessivas etapas cromatográficas de troca catiônica e de fase reversa onde obteve-se as toxinas bothropstoxinas I e II purificadas. Os ensaios de interação foram realizados em um Sistema Biocore T200, onde as toxinas foram imobilizadas sob a superfície de um sensor chip tipo CM5, através do acoplamento amina. RESULTADOS: Os ensaios de ligação mostraram que a interação foi muito mais intensa com a bothropstoxinas I, a cinética de interação evidencia um sistema de alta estabilidade com uma constante de afinidade  $KD = 2,82 \times 10^{-6}$  M, o que caracterizam um sistema de associação rápida e uma lenta dissociação, comportamento desejado para um inibidor. A baixa afinidade do ácido gálico pela bothropstoxinas II impossibilitou a realização dos estudos cinéticos com a referida toxina. Este trabalho está licenciado pelo CGEN (010627/2011-1) e IBAMA (27131-2) CONCLUSÃO: O ácido gálico apresentou uma significativa interação molecular pela bothropstoxinas I quando comparado com a bothropstoxinas II. A constante de afinidade obtida evidencia um sistema de alta afinidade, ideal para a formação de um complexo de alta estabilidade. Este estudo fornece dados que servem para entender melhor o papel do ácido gálico no processo de neutralização destas miotoxinas em casos de envenenamento causados por acidentes ofídicos.

Aluno: ANTONIO MAKOTO KAYANO; Orientador: ANDREIMAR MARTINS SOARES e RODRIGO GUERINO STABELI.

**Isolamento e Caracterização Bioquímica Parcial de Proteínas da Anêmona do Mar *Condylactis gigantea*.**

Snake venoms are comprised of a complex mixture of components, in which we highlight the proteins. Snake venom metalloproteases (SVMPs) are zinc-dependent enzymes, the main responsible for the bleeding at the site of bite and by the systemic hemostatic changes arising from the consumption of fibrinogen and interaction with other coagulation factors. Methods and Results: The metalloproteinase named BbMP-1 was isolated from *B. brazili* venom after a single chromatographic step on CM-Sephrose®. This protease showed monomeric conformation, pI 6.4 and molecular mass of 22,933.22 Da. The partial amino acid sequence showed high similarity with other SVMPs, chiefly among class P-I SVMPs. Molecular modeling showed that the BbMP-1 has a typical conformation of snake venom metalloproteinases with an ellipsoidal shape and two subdomains, besides presenting the conformation of the Zn<sup>2+</sup> binding region. In tests on azocasein was observed limited stability with significantly reduction on enzymatic activity after exposure to pH below 5.0 or temperatures above 45 °C. Moreover the enzymatic activity was inhibited by EDTA and DTT, showing dependence for metallic ion (Zn<sup>2+</sup>) and disulfide bridge to maintenance of catalytic activity. The BbMP-1 presented fibrinogenolytic activity on A $\alpha$  chain and in a lesser extent on B $\beta$  chain, being classified as a  $\alpha$ -fibrinogenase. The antimicrobial activity in vitro on *P. falciparum* and *L. amazonensis* (promastigotes) were evaluated, being noted IC<sub>50</sub> 3,2  $\pm$  2,0  $\mu$ g/mL and 41,7  $\mu$ g/mL respectively. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2). Conclusion: The approaches worked out in this study may help in the understanding of the pathophysiological effects induced by this toxin group. Moreover, the biotechnological potential of BbMP-1 was evidenced by the demonstration of its antiplasmodial and antileishmania activity, noting that is the first time that it was described for this component of snake venoms.

Aluno: GEORGE AZEVEDO; Orientador: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STABELI.

**Purificação e Caracterização Bioquímica Parcial de Proteínas do Veneno de Serpente *Bothriopsis bilineata*.**

*Bothriopsis bilineata* é uma serpente arborícola presente na Amazônia brasileira e colombiana. Os venenos de serpentes são constituídos por uma mistura complexa de várias proteínas ativas que induzem alterações sistêmicas e locais, tais como edema, hemorragia, mionecrose, proteólise, hemólise, hipotensão e coagulação. Exemplos são as aminas biogênicas, peptídeos ou proteínas, tais como fosfolipase A2, esterases, as proteases, as enzimas e as lectinas liberando cininas. O objetivo deste estudo foi o isolamento e caracterização parcial de proteínas presentes no veneno da serpente *B. bilineata*. Métodos e Resultados: 5 mg de veneno em bruto foi solubilizado em 1 mL de TFA 0,1% e submetidos a cromatografia de fase reversa em uma coluna C18, 25 x 4,6 cm (Supelco). A amostra foi eluída em um gradiente de acetonitrila crescente (0-100%) com um fluxo de 1 mL/min utilizando um sistema AKTA (GE Healthcare). Foram coletados trinta e cinco picos e analisados por SDS - PAGE a 12,5% e por espectrometria de massa MALDI - TOF. As análises mostraram cinco frações (13, 14, 15, 16 e 18) com elevado grau de pureza e de massas próximas a 14 kDa. Foi realizada eletroforese bidimensional, com o veneno bruto, que apresentou cerca de 80% do teor proteico largamente distribuído na região de pH ácido. A pequena quantidade de proteínas apresentadas na região básica de pH possuem massas moleculares próximas a 17 kDa. Conclusão: De acordo com os estudos preliminares baseados nas observações feitas em gel mono e bidimensional, observou-se que o veneno de *B. bilineata* pode ser rico em fosfolipases A2, como descrito na literatura. A análise por eletroforese em duas dimensões (2D) mostrou que aproximadamente 80-90% do veneno da serpente *B. bilineata* possui caráter ácido. Outros ensaios, a fim de identificar a sequência N-terminal e a caracterização de atividades biológicas estão em progresso. Esta pesquisa foi autorizada pelo CGEN / CNPq (010627/2011-1) e IBAMA (27131-2).

## Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia

Aluno: PAULO HENRIQUE BERTÃO DAVILA; Orientador: XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX. **Microbiota Oral de uma Jibóia (*Boa constrictor*, Linnaeus, 1758).** Estudos sobre a microbiota oral em serpentes brasileiras são raros e ocorrendo principalmente em serpentes das famílias Viperidae e Elapidae (ambas com peçonha). No Brasil as serpentes da família Boidae são as mais criadas em cativeiros e por possuírem hábitos alimentares generalistas acabam tendo uma variação na microbiota oral devido a diversos fatores como: sazonalidade, região, alimentação e ambiente. Este trabalho teve por objetivo descrever as bactérias encontradas na cavidade oral de uma Jibóia (*Boa constrictor*) mantida em cativeiro no município de Cacoal, Rondônia. As análises foram feitas através da coleta da mucosa oral da serpente por meio de swabs esterilizados transferindo-os para meio de cultura em triplicata de Agar Nutriente, Agar Sabouraud e Agar Macconkey. Após o crescimento foram feitas as colorações Gram nas colônias encontradas na superfície das placas, para posterior identificação bioquímica usando teste de oxidase e catalase. Uma amostra de cada coleta foi utilizada na identificação microbiológica. Como resultado obteve-se cocos Gram positivos do gênero *Staphylococcus* sp., e espécies Gram Negativas como *Proteus vulgaris*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Raoultella ornithinolytica* e *Serratia marcescens*. A bactéria anaeróbia, *Bacteroides fragilis*, também foi identificada na mucosa oral da jibóia, sendo todas as amostras catalase positivas. Houve também o crescimento de fungos do gênero *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp em todas as placas de Agar Nutriente com presença de conídios. Algumas das bactérias descritas acima são encontradas na cavidade oral de algumas serpentes peçonhentas, como é o caso do *Staphylococcus* sp. encontrado também em serpentes da família Elapidae e Viperidae. As serpentes mesmo não sendo venenosas devem ser consideradas quanto à infecção por fungos e bactérias durante o acidente, pois podem estar associadas a doenças em humanos.

Aluno: MAURO POLASCHI; Orientador: ANDREIMAR MARTINS SOARES e RODRIGO GUERINO STABELI. **Efeito Microbici da de L-Aminoácido Oxidase Isolada do Veneno de *Crotalus atrox*.** O veneno das serpentes do gênero *Crotalus* é constituído por peptídeos e proteínas, como as L-aminoácido oxidases (LAOs). A LAO é caracterizada por uma massa molecular entre 120 a 150 kDa, além de um pl ácido ou básico com valores de 4,4 a 8,8. O amplo espectro biológico da LAO é um grande alvo para estudos focalizados no desenvolvimento de potenciais produtos microbicidas. Assim, o objetivo desse trabalho é isolar e caracterizar bioquimicamente a LAO do veneno de *Crotalus atrox* e avaliar sua ação bactericida contra Gram positivas e Gram negativas. **MÉTODOS:** O isolamento da LAO foi realizado em duas etapas cromatográficas, utilizando uma coluna de exclusão molecular e posteriormente uma coluna de troca iônica. As frações foram avaliadas em Eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5% em condições desnaturantes. A atividade coagulante realizada sobre o plasma humano citratado foi definida pela Dose Coagulante Mínima (DCM) com concentrações diversas de proteínas e veneno bruto. Para determinar a atividade de LAO foi utilizado proteína isolada e veneno bruto em solução contendo L-leucina. A atividade fosfolipásica foi realizada com o veneno bruto sobre o substrato ácido 4-nitro-3-octanoyloxy-benzóico (NOB). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada por teste de suscetibilidade de microdiluição sobre cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* cultivados em caldo Luria Bertani (LB). **RESULTADOS:** A cromatografia inicial obteve 6 picos, evidenciando na Fração 1 a presença de uma massa molecular entre 46 e 56 kDa. A segunda etapa obteve 10 picos, sendo que o pico 9 apresentou-se puro com aproximadamente 46 kDa. O veneno bruto e LAO apresentaram baixo potencial de coagulação, com um DCM de 38 µg para a LAO e >40 µg para o veneno bruto. A atividade fosfolipásica apresentou uma atividade de 28,35 U/min. A atividade de LAO apresentou para o veneno bruto 0,164 U/min e a Fração 1 mostrou 0,176 U/min. A atividade bactericida para *S. aureus* apresentou uma CIM de >40 µg/µL de LAO e veneno bruto. Para *E. coli*, a concentração de 200 µg/µL de LAO apresentou atividade, porém o veneno bruto não mostrou efeito bactericida. **CONCLUSÃO:** A LAO do veneno de *C. atrox* foi purificada em duas etapas cromatográficas. A LAO isolada e veneno bruto mostraram um potencial coagulante baixo. Quanto a atividade bactericida, as concentrações de LAO e veneno bruto possuem efeito para *S. aureus*, e para *E. coli*, somente a LAO teve ação.

Aluna: RAIRES FERREIRA; Orientador: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERÓN e RODRIGO GUERINO STABELI. **Efeito Microbici da do Veneno de *Crotalus durissus cascavella*.** Os estudos bioquímicos de fracionamento do veneno de *Crotalus durissus* revelaram a presença de componentes bioativos como peptídeos, proteínas e enzimas. Através de fracionamento o veneno crotálico evidencia-se quatro principais toxinas denominadas de convulxina, giroxina, crotoxina e crotamina. A partir do isolamento destas toxinas torna-se possível a realização de uma melhor caracterização bioquímica, farmacológica e a avaliação de suas propriedades microbicidas. **MÉTODOS:** O fracionamento do veneno foi realizado utilizando uma coluna de exclusão molecular Superdex G-75. As frações foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5%. A atividade coagulante realizada sobre o plasma onde a Dose Coagulante Mínima (DCM) é definida com concentrações diversas do veneno bruto. A atividade LAO do veneno bruto foi determinada através da reação com L-leucina. A atividade fosfolipásica foi realizada com o veneno bruto sobre o substrato ácido 4-nitro-3-octanoyloxy-benzóico (NOB). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida por teste de suscetibilidade de microdiluição sobre cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* cultivados em caldo Luria Bertani (LB). **RESULTADOS:** O fracionamento do veneno resultou em três frações correspondentes a crotoxina 23 kDa, convulxina 70 kDa e giroxina 30 kDa. O veneno possui baixa atividade coagulante DCM de 20 µg/mL em 1 minuto, possui moderada atividade fosfolipásica com 37,62 U/min e considerável atividade LAO com 1,059 U/min. A (CIM) do veneno e crotoxina contra *S. aureus* e *E. coli* foi de 80 µg/µL e para *P. aeruginosa* não houve inibição. **CONCLUSÃO:** O veneno de *C. d. cascavella*, apresentou um potencial de coagulação insuficiente, considerável atividade fosfolipásica e atividade de L-aminoácido oxidase significativa. O veneno bruto e crotoxina mostram ter um potencial bactericida. Contudo, os resultados obtidos são preliminares necessitando a repetição dos testes, melhorias e adaptações de técnicas.

Aluna: LILIAN MOTA CANTANHEDE; Orientador: RICARDO DE GODOI MATTOS FERREIRA. ***Leishmania species identification and Leishmaniavirus detection on clinical samples from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis patients in Rondonia, Western Amazonian region.*** The American tegumentary leishmaniasis (ATL) is endemic throughout the Amazon region and the state of Rondonia is the third Brazilian state in number of reported cases, with an average of 1000 new cases per year. In Amazonia, seven different species of *Leishmania* have been described. Clinical manifestation may range from a cutaneous form to the destruction of the mucosal tissues. The mechanisms that lead to disease progression to the mucosal form in about 10% of patients treated or under treatment remain unclear and might be related with parasite and host genetic factors, immune response and more recently the presence of a virus infecting the pathogen, named *Leishmania RNA Virus* (LRV). The objective of the present study was to identify the *Leishmania* species causing ACL in Rondonia, Brazilian western Amazonian region, as well as verify if the LRV could be detected among studied patients and its possible association with the presented clinical form. Cytology brush cotton swabs were collected from lesions of 137 patients with clinical suspicion of leishmaniasis and stored immediately in 1 ml of RNALater®. All samples were subjected to PCR amplification and species identification by RFLP with primers to the internal transcribed spacer 1 (ITS1), to the heat shock protein (HSP70) as well as kinetoplast DNA (kDNA) – only for leishmaniasis diagnosis. 121 patients presented positive results for at least one of the molecular tests applied. The most frequent species found using HSP70 was *Leishmania braziliensis* 73 (60.3%), followed by *Leishmania guyanensis* 33 (27.3%), *Leishmania shawi* 2 (1.7%), *Leishmania amazonensis* 1 (0.8%) and mixed infection was *L. guyanensis* and *L. braziliensis* 3 (2.5%), *L. guyanensis* and *L. amazonensis* 1 (0.8%). Species from 8 (4.2%) patients were not identified. The cutaneous form was found on 78 patients, mucous form on 38, both forms on 4, and 1 patient presented the diffuse form. For LRV detection, RNA was extracted from the positive samples and cDNA synthesized for PCR amplification using primers specific for the virus genome. The virus was detected in 57 patients (47.1% - 95%CI 38.1%...56.0%). A border line association ( $p = 0.074$ , Fisher's exact test) was found between the presence of LRV and the form of the lesion (excluding the diffuse and mixed forms patients). Overall, the risk of been positive for LRV among cutaneous form patients was 0.772 (95%CI 0.591...1.007) and among mucous form patients was 1.702 (95%CI 0.992...2.915).

## Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia

Aluno: LUIS ANTÔNIO DA SILVA; Orientador: [NAJLA BENEVIDES MATOS](#). **Formação de Biofilme em Cepas de *Escherichia Coli* Enteroagregativa (EAEC) Isoladas de Crianças com Gastroenterite Aguda na Região de Porto Velho/RO.** A formação de biofilme é uma estratégia de sobrevivência microbiana importante, pois permite que as bactérias resistam à ambientes hostis e possam colonizar novos nichos por vários mecanismos de dispersão. Alguns estudos têm demonstrado que *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC) tem a habilidade de formar biofilme in vitro, porém o mecanismo desta ação não está totalmente estabelecido. O objetivo deste estudo foi detectar a capacidade de formação de biofilme em cepas de EAEC isoladas de crianças com gastroenterite aguda na região de Porto Velho/RO. Utilizamos neste estudo um total de 125 isolados de EAEC. Tais amostras foram isoladas de crianças de 0 a 6 anos de idade, admitidas no Hospital Infantil Cosme e Damião (HICD) com quadro clínico de gastroenterite aguda, no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2012. Para a formação do biofilme as amostras foram submetidas ao teste de detecção de biofilme por espectrofotometria. Após coloração com cristal violeta, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 640nm. Através dos valores de absorbância obtidos, as amostras foram classificadas em: não aderente (NA), fracamente aderente (FCA) ou fortemente aderente (FMA). Dos 125 isolados testados 47/125 (37,6%) foram considerados fortemente aderentes, 21/125 (16,8%) fracamente aderente e 39/125 (31,2%) não aderentes. Estes resultados demonstram a existência de cepas formadoras de biofilme nas amostras estudadas, fato que é preocupante, uma vez que esta propriedade é um fator de virulência adicional e um mecanismo de resistência natural da bactéria, tornando-as mais resistentes a ação de agentes químicos e físicos. Além disso, a matriz exopolissacarídica formada no biofilme impede a penetração de agentes antimicrobianos, dificultando a destruição das bactérias e estando relacionada a persistência bacteriana em casos de infecção.

Aluno: EDAILSON DE ALCANTARA CORREA; Orientadores: [ANDREIMAR MARTINS SOARES](#), [LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON](#) e [RODRIGO GUERINO STABELI](#). **Screening a Potential Myotoxin Inhibitor from *Humiranthra ampla* using Surface Plasmon Resonance (SPR).** Bothrops sp venoms are rich in proteic components, where we highlight the myotoxins that are a class of toxins that present a phospholipase A2 structure. Among these, BthTX-I is a PLA2 homologue (Lys-49) found in *B. jararacussu* venom and responsible for several symptoms observed in snake bites such as pain, edema and myotoxicity. *Humiranthra ampla* (Miers) Baehni, commonly known as surucucaina, has been used by traditional populations as an alternative therapy to poisoning by snake bites. The present work aimed the screening of BthTX-I binder from *H. ampla* roots extracts by surface plasmon resonance (SPR) assay using a Biacore T200 (GE Healthcare) and to evaluate, in murine models, the inhibition of myotoxic effect of BthTX-I by selected fractions from aqueous extract of *H. ampla* roots. Methods and Results: The aqueous extract, obtained from about 1kg of dried and pulverized root (collected in the city of Porto Velho, RO), was submitted to several chromatographic steps on silica column and separated into several fractions. These fractions were then subjected to screening by SPR analysis where BthTX-I was immobilized on the surface of a CM5 sensor chip type by amine coupling. The results of binding assays showed that the fraction HaM(aq)reE1-3 presented significant interaction, with a high affinity. To evaluate the neutralization of myotoxic effects induced by BthTX-I, the seric levels of Creatine Kinase (CK) were determined after intra-muscular injection of HaM(aq)reE1-3/BthTX-I at several ratios. The results showed that the selected fraction at the ratio 1:3 (HaM(aq)reE1-3 / BthTX-I; w/w) was able to inhibit the toxic effect at about 64%. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2). Conclusion: This work demonstrates the potential antiophidic effect of *H. ampla* and shows how SPR could be useful for screening of enzyme inhibitor. Furthermore, these results serve to further understand the role of the *H. ampla* in the neutralization of myotoxins in cases of poisoning caused by snakebites.

Aluna: JESSICA AMARAL LOPES; Orientador: [ANDREIMAR MARTINS SOARES](#), [JULIANA PAVAN ZULIANI](#), [LEONARDO DE AZEVEDO CALDERÓN](#) e [RODRIGO GUERINO STABELI](#). **Isolamento e Caracterização Bioquímica de Fosfolipase A2 Miotóxica do Veneno da Serpente *Bothrops atrox*.** *Bothrops atrox* é uma serpente endêmica da região amazônica e é responsável pela maioria dos acidentes ofídicos notificados nesta região. Componentes dos venenos de serpentes têm atraído a atenção devido as suas propriedades bioquímicas, funcionais e estruturais. Eles são compostos por uma mistura complexa de substâncias inorgânicas (ions metálicos) e orgânicas (carboidratos, nucleosídeos, peptídeos e proteínas), entre os quais se destacam a fosfolipase A2 (PLA2). Estes componentes são membros de uma família de pequenas proteínas que partilham a mesma função enzimática, caracterizado por hidrólise específica de fosfolípidios na posição sn-2. Objetivos: Isolar e caracterizar bioquimicamente uma miotoxina com estrutura PLA2 de *B. atrox*. Métodos: 50 mg de veneno bruto foi submetido à cromatografia de permuta de cátions, resultando em treze picos que foram avaliados por SDS-PAGE a 12,5%. Resultados: Verificou-se que a fração 11 obteve um bom grau de pureza confirmada por cromatografia de fase reversa em coluna C-18. A massa molecular foi determinado por espectrometria de massa MALDI-TOF demonstrando uma massa de 13,850 kDa. O efeito miotóxico foi avaliado por níveis de creatina quinase (CK) em soro de camundongos (22-25g) que receberam injeção intramuscular (25µg/50µL) do veneno bruto ou proteína isolada na mesma concentração. Os resultados obtidos mostraram que a proteína isolada representou atividade de 46,7% em comparação com veneno bruto. Conclusão: A miotoxina foi obtida com elevado grau de pureza após dois passos cromatográficos. Ela também mostrou efeito miotóxico significativo quando comparado com veneno bruto. Esta toxina pode servir como um modelo para uma melhor compreensão de seu papel no processo de envenenamento provocado por acidentes ofídicos deste gênero. Este estudo foi autorizado pelo CGEN / CNPq (010627/2011-1) e IBAMA (27131-2).

Aluna: CLEOPATRA ALVES DA SILVA CALDEIRA; Orientadores: [ANDREIMAR MARTINS SOARES](#), [LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON](#) e [RODRIGO GUERINO STABELI](#). ***Leishmania* species identification and Leishmanavirus detection on clinical samples from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis patients in Rondonia, Western Amazonian region.** A new protein with affinity to bovine chymotrypsin was identified from amazon *Bothrops atrox* snake venom, which was partially purified and characterized. Objective: The present study purpose is to investigate a protein with affinity to chymotrypsin present in the venom of *B. atrox*. Methods and Results: Approximately 25 mg of crude venom was dissolved in 1mL of milli-Q water and then fractionated using a Superdex™ Peptide 10/300 GL column (1 x 30 cm) connected to an ÄKTA System (GE Healthcare). The column was equilibrated with 20mM Tris-HCl buffer, pH 7.4. The purification was performed with an isocratic gradient at a flow rate of 0.5 ml/min monitored at 215/280 nm. Seven fractions were obtained and assayed with immobilized chymotrypsin using a Surface Plasmon Resonance system (Biacore T200, GE Healthcare), in order to evaluate the interaction and affinity between the chymotrypsin and protein present in the fractions. Chymotrypsin was immobilized by amine coupling in a CM5 sensor chip. Only the fraction A1 showed interaction presenting a response of approximately 50 RU. In order to obtain high amounts of this protein to perform kinetic assay, affinity chromatography was performed using bovine chymotrypsin immobilized to Sepharose 4B resin pre-activated (GE Healthcare) equilibrated with 20mM Tris-HCl buffer, pH 7.4, under a flow of 1mL/min with segmented gradient monitored at 280 nm. The eluted fraction was analyzed by SDS-PAGE 15% under denaturing conditions, showing an apparent mass of approximately 10kDa. Conclusions: A new chymotrypsin binder was identified in *B. atrox* venom, potentially an enzyme inhibitor. However, enzymatic assay will be performed in order to confirm our hypothesis. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).



## Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia

Aluno: MARCOS BARROS LUIZ; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, CARLA FREIRE CELEDONIO FERNANDES e RODRIGO GUERINO STABELI. **Nanobodies of Camelid Assets Against Crotoxin, a Neurotoxin of the Snake *Crotalus durissis terrificus***. In Brazil, more than 30,000 cases of snakebite envenoming occur each year. From these, about 7,5% of the injuries are caused by snakes of the genus *Crotalus*, which originate a mortality rate of 1.87%. Neurotoxic, nephrotoxic and myotoxic effects of *Crotalus* envenoming are mainly related to the crotoxin (CTX), a dimer formed, via noncovalent interactions, between the phospholipase A2 (CB), basic and enzymatically active, and crotoxin (CA), acid and enzymatically inactive. Treatment in case of envenoming is performed by administering immunobiologics derived from hyperimmunized horses. Besides high cost, due to the need for specialized animal care, and nonlinearity between production batches, these immunoglobulins can cause hypersensitivity reactions. Thus, the search for alternative methods that can minimize the disadvantages of conventional serum therapy has become relevant. Camelids produce antibodies devoid of light chains, in which the antigen recognition region is formed by the single domain called VHH or nanobody. In addition to thermal and pH stability, important for field treatment, nanobodies are one tenth the size of conventional antibodies, cause low immunogenicity, is capable to neutralize animal toxins and can be produced in microorganisms. Exploring these advantages, this work aimed to produce VHH fragments of *Lama glama* that specifically recognize the crotoxin. For this, the phage display technology was employed. After monitoring the immune response of a *Lama glama* immunized with monomers CA and CB and CTX by ELISA, VHHs fragments were amplified by RT-PCR using cDNA synthesized after RNA extraction from peripheral lymphocytes of the animal. The amplified product was inserted into the phagemid (pHEN1) and a VHH library with a titer of  $3.6 \times 10^{12}$  was constructed using *E. coli* TG1. After infection of primary library with helper phage VCSM13, VHHs expressed on the surface of the bacteriophage were selected using immunotubes previously adsorbed with CTX, CA and CB. Two clones recognized CA, while 76 and 58 clones recognized CTX and CB by ELISA, respectively. Clones that showed greater reactivity were sequenced and characterized in silico. Further experiments aiming to measure the affinity of the clones (Surface Plasmon Resonance) and to verify the toxin neutralization ability will be performed. According to preliminary results, VHHs anti-CTX could be safe and cost-effective tools to contribute in the treatment of envenoming by *Crotalus* snakes.

Aluno: LEANDRO SOARES MOREIRA DILL; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STABELI. **Antibodies produced against native and modified phospholipases A2: Analysis of antigen-antibody and cross-reactivity interactions by surface plasmon resonance**. The serum therapy used for accidents caused by poisonous snakes have not improved significantly since the beginning of its application. Studies on the cross-reactivity of antibodies, mainly related to molecular interaction between antigen-antibody, constitutes a strategy for better understanding of the mechanisms of neutralization of toxins. Methods and Results: The BthTX-I and BthTX-II were purified from the venom of *Bothrops jararacussu* by High Performance Liquid Chromatography. Both phospholipases were subjected to chemical modification by reaction with 4-bromophenacyl bromide (BPB) that alkylate the histidine residue, altering their enzymatic and toxic characteristics. Antibodies were raised in rabbits by immunization with BPB-modified and native. The molecular interaction assays were performed on Biacore T200 system (GE – Healthcare). For this purpose, myotoxins were immobilized on CM5 sensor chip by amine coupling method. The interaction assays performed with antibodies raised against native and modified proteins can enhance antigenic differences induced by chemical modification. Intending to evaluate the cross-reactivity, the affinities of antibodies produced against native or modified phospholipase A2 isolated from *Bothrops moojeni* venom was measured by confronting them against the myotoxins BthTX-I and BthTX-II immobilized on sensor chip, as result it was able to prove the cross-reactivity between antibodies produced against *B. moojeni* antibodies and *B. jararacussu* myotoxins. Conclusion: The results shown here demonstrate that the SPR analysis is a suitable approach to assess the quality of antivenom produced against snake venom. The cross reactivity, that has been evidenced between toxins from different species of *Bothrops* sp can be better evaluated, as well chemical modification that has been proposed to reduce toxic effects of snake venom toxins.

Aluna: NIDIANE REIS PRADO; Orientador: ANDREIMAR MARTINS SOARES, CARLA FREIRE CELEDONIO FERNANDES, LUIZ HILDEBRANDO PEREIRA DA SILVA e RODRIGO GUERINO STABELI. **Snakebites Envenomation and Alternative Serotherapy by Camelid Nanobodies**. In Brazil, venomous snakes have been classified into *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis* and *Micrurus* genera. The *Bothrops* genus comprises more than 60 species and causes about 73.5% of reported envenoming by snakebites. Two myotoxic phospholipases were isolated from *B. jararacussu* venom, bothropstoxin I and II (BthTX-I and BthTX-II). Although both toxins participate in the damage caused by *B. jararacussu* poisoning, as hemorrhage, edema and necrosis, BthTX-I presents no enzymatic activity, while BthTX-II is enzymatically active. Heterologous serum produced in horses remains the standard treatment for snake bite envenoming. Despite high efficacy, this treatment is not able to reverse effectively local damage caused by snake envenoming, making necessary to search for new therapies. Camelids, in addition to conventional antibodies, produce functional immunoglobulins G devoid of light chains, in which the antigen binding site is formed only by the single domain called VHH or nanobody. Besides small size and neutralization capability, VHHs presents thermal and pH stability, low immunogenic potential, and low cost production. Considering the camelid VHH characteristics, this work aimed to produce and to characterize VHH fragments against BthTX-I and II. For that, a VHH immune library was constructed employing the phage display technology. VHHs regions were isolated by PCR using peripheral lymphocyte cDNA obtained from one *Lama glama* immunized with BthTX-I and II toxins. Subsequently, amplicons were cloned into PHEN-1 phagemid using TG1 *E. coli* strain, and the primary library infected with M13K07 helper phage to display VHH fused to phage coat protein (P11). After selection step performed on immobilized BthTX antigens, 26 and 6 clones recognized BthTX-I and BthTX-II, respectively, by ELISA. Only the clone KC329718 was able to recognize both toxins. To characterize the clones in silico, the complementarity determining regions (CDRs), frameworks (FRs) and the known camelid VHH hallmark of ten distinct amino acid sequence profiles were determined. Clone KC329718 was transformed in a non-suppressor *E. coli* strain HB2151 and purified by affinity chromatography using Ni-NTA column. Affinity between VHH and BthTX-I and II was demonstrated by surface plasmon resonance analysis. Selected VHHs could be a powerful strategy to improve the treatment of snake poisoning. Further experiments have to be performed to verify the neutralization capability of identified VHHs.

Aluno: TIAGO BISPO REGO; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STABELI. **Preliminary Characterization of Trypsin Inhibitors from *Rhaebo guttatus* (Anura: Bufonidae) Parotoid Venom**. *Anura bufonidae* present one pair of agglomerates glands at the post-orbital region on either side of the body, named as parotoid. This structure is responsible by the secretion, production and storage of the venom, which essentially contains steroids, biogenic amines, proteins and peptides. In this context, the objective of this study was the preliminary characterization of trypsin inhibitors from *Rhaebo guttatus* poisonous secretion. Methods and Results: The secretion was obtained by manual stimulation of the glands and then lyophilized and stored at -86 °C. 50 mg of the lyophilized crude venom was solubilized in TFA 0.1% (600µl) and ACN/TFA 0.1% (400 µl) and them injected in a Phenomenex Júpiter C18 column (5µ, 300Å 250x10.000 nm) connected to an AKTA System (GE Healthcare). The proteins were eluted with a growing gradient of acetonitrile at a flow rate of 2.0 mL/min and monitored simultaneously at 280 and 215 nm. Five main fractions were obtained. The fractions obtained were lyophilized and then solubilized in running buffer HBS-P buffer (1x) in order to assay a surface plasmon resonance system (Biacore T200, GE Healthcare) in order to evaluate the affinity of trypsin immobilized on flow cell using sensor chip CM5 to fractions. The fractions named Rg02, Rg03 and Rg04 showed interaction with trypsin showing RU of approximately 60, 25 and 40, respectively. Inhibitory activity was performed in a spectrophotometer at 410 nm monitored the product p-nitroanilide liberated from reaction, the crude venom was stored with the enzyme trypsin and BAPNA reading demonstrated approximately 48% reduction in enzyme activity. Conclusions: It was concluded that the venom of *Rhaebo guttatus* parotoid gland present trypsin inhibitors. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).

## Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia

Aluno: JOÃO GABRIEL; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES e ROBERTO NICOLETE. **Seleção de Frações Subcelulares de *L. Amazonensis* para Confeção de uma Vacina Biotecnológica pela Interação com IGG de Camundongos Infectados Ensaída por Ressonância Plasmônica de Superfície**. A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é considerada uma doença negligenciada, para a qual ainda não se dispõe de uma vacina efetiva ou um diagnóstico eficiente e cujo arsenal quimioterápico é ameaçado pelo surgimento de resistência por agentes etiológicos como *Leishmania amazonensis*. A LTA é endêmica em países pobres e possui alta incidência no Brasil. As vacinas desenvolvidas a partir de frações nativas de parasitas têm levado a identificação de subunidades antigênicas definidas e ao desenvolvimento de tecnologia de adjuvantes vacinais. O objetivo do presente trabalho foi obter frações subcelulares de *L. amazonensis* para subsidiar a seleção de uma delas para encapsulamento em micropartículas de PLGA e avaliação de imunomodulação protetora. O critério de seleção será interação de afinidade das frações avaliada por Ressonância Plasmônica de Superfície utilizando um chip imobilizado com IgG's policlonais purificadas de soro de camundongos Balb/C infectados experimentalmente por *L. amazonensis*. Quatro frações subcelulares de *L. amazonensis* foram obtidas por extração diferencial com detergentes utilizando um kit comercial (S-PEK Calbiochem®): fração citosólica, fração de membranas plasmática e organelares, fração nuclear e fração enriquecida em citoesqueleto. Quatro frações foram obtidas por centrifugação diferencial sem uso de detergentes: fração obtida a 6 000g, fração obtida a 16 000g, fração obtida a 35 000g e o sobrenadante do último passo de centrifugação que corresponde ao conteúdo citosólico. Um aspecto avaliado da ressonância plasmônica de superfície é o efeito dos tampões de extração no sinal do sensorgrama. Frações proteicas extraídas com detergente foram submetidas à troca de tampões por ultra-filtração (Amicon cutoff 10 kDa, Milipore®), ou precipitação com TCA/Acetona e serão comparadas aos extratos obtidos em ausência de detergente. Estes extratos serão caracterizados posteriormente por Immuno-blotting com marcadores subcelulares. Os resultados preliminares evidenciam que uma fração rica em proteínas do citoesqueleto possui maior afinidade pelo ligante. Experimentos de immuno-blotting do perfil eletroforético das frações subcelulares com soro de camundongos infectados por *L. amazonensis* estão em andamento e irão fornecer subsídios para a seleção da fração prioritária para desenvolvimento de um protótipo vacinal.

Aluna: JENIFER LUANA ALMEIDA; Orientadora: CLEONI ALVES MENDES DE LIMA. **Frequência de *Mycobacterium abscessus* no Estado de Rondônia no período de 2008 a 2012**. As micobactérias não tuberculosas (MNT) estão associadas a certos ambientes e surgiram como uma das principais causas de infecções respiratórias e doenças oportunistas. Compreendem mais de 150 espécies amplamente distribuídas em todo o ambiente. O *Mycobacterium abscessus* pertence ao grupo das Micobactérias não tuberculosas de crescimento rápido, normalmente existem no solo e na água, podem causar um amplo espectro de infecções nos seres humanos, como resultado de duas grandes tendências recentes: a associação da infecção com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida e o reconhecimento de que a doença pulmonar por Micobactérias não tuberculosas é encontrada com frequência cada vez maior na população não acometida pelo HIV. Objetivo: Estabelecer a frequência de *M. abscessus* no Estado de Rondônia em relação às demais espécies de micobactérias não tuberculosas. Método: O isolamento foi realizado no Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia, proveniente de amostras respiratórias de 60 pacientes suspeitos de tuberculose pulmonar, no período de 2008 a 2012. Resultado: Foram isoladas 117 amostras positivas para micobactérias não tuberculosas, dessas identificadas como *M. abscessus* (38%), *M. avium* (19%), *M. fortuitum* (12%), *M. intracellulare* (4,3%), outras 12 espécies (13,7%) e (13%) não identificadas. Os pacientes diagnosticados possuíam idade média de 50 anos, sendo mais frequente o gênero masculino com 64,4%. Conclusão: A espécie *M. abscessus* foi predominante na infecção pulmonar. *M. abscessus* é a espécie de micobactéria mais resistente a drogas e exige taxas de tratamentos não satisfatórios em pacientes com doenças pulmonares. Assim, a rápida identificação e determinação da cepa podem evitar tratamentos errôneos, tendo em vista que a maioria dos casos infectados por Micobactérias não tuberculosas fizeram tratamento para tuberculose pulmonar.

Aluna: KAYENA DELAIX ZAQUEO; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, JULIANA PAVAN ZULIANI, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STABELI. **Isolation and partial characterization of a new serineprotease from *Bothrops brazili* snake venom**. The snake venoms are complex mixtures of organic and inorganic components predominantly constituted by peptides and proteins. They are rich in proteolytic enzymes, such as serineproteases that affect the hemostatic system through several mechanisms. This research reports the isolation, biochemical and enzymatic characterization of the first serineproteases from *Bothrops brazili* snake venom. Methods and Results: The isolation process consisted of two consecutive chromatographic steps (Benzamidine Sepharose and reverse phase in C2/C18) both steps in Akta Purifier10, GE, resulting in one new serine proteases, named BbrzSP-I. Estimation by SDS-PAGE under denaturing conditions showed that, it has about 39kDa. The N-terminal sequence was acquired by Edman degradation and BbrzSP-I showed the sequence (VIGGDECNINEHPFLAFMYYSPTYFCGMTLINQEWVLTAAHCDKTYMRI). The multiple alignment showed high identity compared to other thrombin-like enzymes from snake venoms. The coagulant potential upon plasma was tested using 200µL of citrated human plasma and different doses of the enzymes, the new enzyme showed a minimum coagulant dose (MCD) of 0.75µg (±0.05, n=3). In order to determine the influence of inhibitors on the coagulant activity, the enzyme was preincubated with benzamidine 5mM and 10mM, PMSF 1mM and 3mM (serineprotease inhibitors), or with EDTA 5mM and 10mM (metalloprotease inhibitors) and saline or DMSO (control), the BbrzSP-I activity only was significantly reduced after preincubation with specific serineprotease inhibitors. The ability of BbrzSP-I to hydrolyze chromogenic substrates S-2238 (for thrombin-like enzymes) and S-2288 (for serine proteinase) was tested and to determine the influence of inhibitors, the same inhibitors above listed were tested. The enzyme was able of hydrolyzing different chromogenic substrates and its activity was significantly reduced after preincubation with specific serineprotease inhibitors. To evaluate the influence of pH on enzyme activity, the protein was preincubated in a pHs range and after this, the activity was checked upon S-2238, observing a high pH stability. Conclusion: Based on its biochemical and enzymatic characteristics, BbrzSP-I was identified as a first thrombin-like enzyme report from *Bothrops brazili* snake venom. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).

Aluno: MIGUEL HEYD BARBOSA; Orientador: MIGUEL HEYD OSHIRO BARBOSA. **Análise Microbiológica de *Gorgulhos Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1758) encontrados em uma Unidade Escolar de Cacoal, Rondônia**. Estudos sobre a análise microbiológica em insetos considerados pragas nas lavouras e no meio doméstico são pouco frequentes, podendo ocasionar problemas sérios a saúde humana. Em áreas consideradas de risco como alas hospitalares e cozinhas escolares, insetos apresentam riscos potenciais como disseminadores de fungos e bactérias sendo de grande importância o controle e a vigilância sanitária do local. No Brasil e em certas partes do mundo o Coleóptera Curculionidae conhecido como gorgulho-do-arroz da espécie *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1758) são pragas que causam danos irreversíveis a lavoura podendo também ocasionar problemas a saúde pública. Este trabalho teve como objetivo descrever os fungos encontrados em *Sitophilus oryzae* em uma unidade escolar do município de Cacoal, Rondônia. As análises foram feitas através da coleta por meio líquido dos microorganismos em potes estéreis e em seguida transferidos para meios de cultura em triplicata de Agar nutriente. Após o crescimento foram feitas as preparações de lâminas para posterior identificação a microscópio óptico. Como resultado obteve-se fungos apelidados popularmente por "fungos de armazenamento" do gênero *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp e *Fusarium* sp. Em produtos processados, contaminantes que são resultado da infestação externa de insetos não são facilmente detectados ou removidos. As larvas, quando sofrem ecdisse, deixam uma casca/pele, que pode contaminar os produtos processados. Gorgulhos e larvas de mariposas/traças depositam a maior parte de seus excrementos no interior do grão. Os principais danos causados por eles são: diminuição do poder germinativo das sementes, descoloração e manchas nos grãos, aquecimento e emboloramento, alterações da composição química dos grãos, produção de toxinas e perda da matéria seca.

## Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia

Aluna: JULIANA SOBRINHO; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, JULIANA PAVAN JULIANI, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STÁBELI. **Isolation and Biochemical Characterization of two acidic Phospholipases A from Bothrops brazili Snake Venom.** The Bothrops brazili is distributed throughout the Amazon region and its venom, like other snakes of this genus, is rich in proteins and bioactive peptides that induce edema, hemorrhage, myotoxicity and interfere in homeostasis. Phospholipases A2 (PLA2, EC 3.1.1.4) are important enzymes present in snake venom and are related with a broad spectrum of physiopathological effects such as neurotoxicity, myotoxicity and inflammatory events. In this work two new acids PLA2 from B. brazili venom were isolated and biochemically characterized. The crude venom was fractionated into three chromatographic steps: ion exchange (CM-Sepharose FF®), followed by a hydrophobic interaction (Butyl-Sepharose HP®) and finally, a reverse phase step (C18 Discovery®). The homogeneity and purity of the samples were evaluated by SDS-PAGE, which revealed the presence of single bands of approximately 14 kDa. PLA2 isolated, named Braziliase-I and Braziliase-II, showed catalytic activity on 4N3OBA (4nitro3octanoylbenzoic acid), being classified as members of PLA2 D49 group. Molecular mass of Braziliase-I and Braziliase-II were determined by mass spectrometry showing 13,894.38 Da and 13,869.63 Da respectively. The N-terminal sequence was determined by Edman chemical degradation and showed the following sequence: Braziliase-I: NLWQFEMLIKIALTSGFMFYSSYGICYGWWGGHGRPKDASDRCCFVHDCCYGKVTTCNPKF and the Braziliase-II: NLWQFEMLIKIAKTSGFMFYSSYGICYGWWGGHGRPQDADRCCFVHDCCYGKVT. The alignment showed high similarity with acidic PLA2 isolated from B. moojeni and other snakes from genus Bothrops. Two new acids D-49 PLA2 Braziliase-I and II were isolated from B. brazili venom, through three chromatographic steps. They showed homogeneous on SDS-PAGE and presented molecular masses and N-terminal sequences compatible with other acid PLA2 isolated from snake venoms. The characterization of snake PLA2 is an important stage for understanding the involvement of these enzymes on pathological symptoms after snakebite, now recognized as a neglected public health problem. This work was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).

Aluno: ANTONIO COUTINHO; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STÁBELI. **Study of ontogenetic variation of Bothrops atrox by proteomic analysis, the region of Porto Velho-RO, belonging to the Brazilian Amazon.** Accidents with snakes in the Amazon are caused mostly, about 90%, by Bothrops atrox, with rapidly evolving hemorrhagic and tissue death. The ontogenetic characterization of the studied specimens show the relevance of snakebite overlooked that produces individuals with physical damage or irreparable consequences. Thus, understanding the molecular differences between the snake venom of a particular geographic region are very important for discovery of bioactive antiophidic to reduce the damage and physiological symptoms that snake venoms cause. These proteic differences may contribute to the discovery of biological and/or medical relevant prototypes. Methods and Results: The Bothrops atrox (adult, young and newborns) from the town of Porto Velho-RO investigated in this work were analyzed by RP-HPLC on C-18 column, mono and two-dimensional electrophoresis and biological activities; evidencing the ontogenetic specimens of this region of the Brazilian Amazon. The venoms of young and newborns analyzed had higher phospholipase activity (hemolytic), hemorrhagic, myotoxic, coagulant and procoagulant activity on chromogenic substrate, compared to adults. We used the apparatus Ettan IPGphor-3 Isoelectric Focusing Unit of GE to perform the focusing of 2D strips. The detection of the chromatographic profile of soluble peptide and protein constituents of the venom was obtained using the HPLC on AKTA™ purifier apparatus from GE. The flow rate for elution of the constituents was 1.0 mL/min in the following gradient of eluent B: 5% for 10 min, 5-15% in 20 min, 15-45% during 120 min, 45-70% for 20 min, 70-100% in 10 min. The major venom proteins of this kind appeared on two-dimensional gels, protein bands with molecular majority bands 92, 52, 37 and 21 kDa. The chromatographic profiles of these venoms, showed variations regarding the retention times and expressed proteins in the samples, differentiating itself from other profiles Bothrops atrox already studied, endorsing ontogenetic and geographic variation that occurs with Bothrops distributed throughout the Brazilian Amazon. This study has been authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2). Conclusion: During preliminary studies we observed variations in protein poisons corroborating the ontogenetic intra- and inter-species of snake venoms of B. atrox, adult, young and newborn.

Aluno: JOSÉ RONIELE MONTEIRO; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STÁBELI. **Isolation and Characterization of Inhibitors Serinoproteases Seed Inga Edulis.** Amazon legume seeds are a rich source of bioactive little explored in the face of its great diversity. These seeds have inhibitors of serine proteinases that participate in processes of plant defense against predators and pathogens, may provide lessons for the development of new therapies for infectious and degenerative diseases. This study aims at the isolation and characterization of peptide inhibitors of serine proteinases present in seeds of Inga edulis. Seeds were collected in Cruzeiro do Sul, Acre, and subjected to spray drying and mill and extraction with alcohol-saline (NaCl 0.15 mol / L in increasing ethanol concentrations: 0, 10, 30, 50, 70 and 90%) in a ratio 1g/10 ml for 16 hours. After centrifugation and collection of supernatants was conducted tests with both inhibitory activity against trypsin and bovine chymotrypsin according to the method of Erlanger. The extracts obtained with 0 and 10 % ethanol showed high inhibitory activity against trypsin and the extract was 90 % ethanol showed high inhibitory activity against chymotrypsin. The ethanolic extract showed 90% peptide content, which was confirmed by mass spectrometry, revealing a peptide mass close to 1 kDa. Analysis by Surface plasmon resonance using Biacore T200 showed high affinity peptide content of this extract with chymotrypsin. The extract was subjected to affinity chromatography using resin Sepharose 4B with immobilized chymotrypsin, resulting in two fractions, was confirmed in a new Biacore T200 analysis in which the second fraction contained the peptide inhibitors. The second fraction was subjected to chromatography on a column of C12 reverse phase resulted in 27 peaks, using a third Biacore T200 analysis showed that the peaks 1, 4, and 5 had affinity for chymotrypsin. Currently, the mass spectra obtained by "collision induced dissociation" are interpreted to obtain the primary sequence of the peptides.

Aluno: RODRIGO SIMÕES SILVA; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STÁBELI. **Frequência de Mycobacterium abscessus no Estado de Rondônia no período de 2008 a 2012.** To improve antivenom production and extend the useful life of immunized horses effort has been devoted to decrease chronic venom toxicity. The use of ionizing radiation and chemical modification have showed suitable approaches for this purpose. BthTX-I and BthTX-II are the main myotoxic components found in the Bothrops jararacussu venom. They present PLA2 structure and have a functional histidine at 48 position. Alkylation of Histidine by 4-bromophenacyl bromide (BPB) has been widely used to assess the role of enzymatic activity in the pharmacological actions of PLA2, but the influence of this chemical modification at the immune response is still unknown. In this study, the ability of antibodies produced against modified myotoxins was evaluated regarding to their capacity to recognize native proteins and to neutralize their pathological effects. BthTX-I and BthTX-II were subjected to chemical treatment with BPB, which alkyl histidine residues altering enzymatic and toxic characteristics. Polyclonal antibody was obtained by rabbits immunization with native and modified toxins. In murine models, antibody produced against modified proteins was able to reduce the edematogenic, myotoxic, hemorrhagic and lethal activities induced by B. jararacussu crude venom and isolate myotoxins. Moreover, the cross-reactivity of these antibodies was evaluated in vitro by ELISA. The results indicated that the antibodies produced against modified proteins were able to recognize venom of several snakes and isolated myotoxins. Chemical modification by PBP was able to reduce the toxic effects of myotoxin. On the other hand, the antigenic properties of native protein were preserved since the antibodies produced against modified toxins presented similar neutralizing and recognition ability. The results shown herein demonstrate that the alkylation using BPB represent a good approach to reduce the toxic effects of myotoxin, that may be useful to production of antivenom. This study was authorized by CGEN/CNPq (010627/2011-1) and IBAMA (27131-2).

## Resumos do I Simpósio de Nanobiotecnologia de Rondônia

Aluna: SULAMITA DA SILVA SETUBAL; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, JULIANA PAVAN JULIANI, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STÁBELI. **Effect of Bothrops bilineata Snake Venom on Neutrophils Function.** Envenomations caused by different species of Bothrops snakes result in severe local tissue damage, with haemorrhage, pain, myonecrosis and inflammation, with the presence of inflammatory cells accompanied by the release of inflammatory mediators. Thus, the present study evaluated the effect of Bothrops bilineata venom (BbV) on human neutrophils functions. Methods and Results: Neutrophils were obtained from healthy donors by density gradient method. Neutrophil purity and viability was determined by flow cytometry analysis and MTT reduction. Cytokines production (IL-8 and IL-6) and PGE2 was determined by immunoenzymatic assay. Hydrogen peroxide was measured using phenol red and horseradish peroxidase. NETs release were evaluated by Quant-iT™ Picogreen dsDNA. BbV showed no toxicity on human neutrophils. At non-cytotoxic concentrations, BbV induced a significant increase in hydrogen peroxide production [C: 11.21±0.07; BbV (6.2 up to 100g/mL) 20.40±0.52; 25.91±0.35; 26.28±0.72; 42.33±0.935; 47.95±5.39; PMA: 47.16±3.48]. Moreover, BbV induced a significant release of IL-6 [C: 5.372±0.751; BbV (6.2 up to 100g/mL) 42.40±2.36; 39.66±3.39; 72.31±6.07; 80.33±1.81; 40.60±5.90] and IL-8 (C: 6.01±0.11; BbV (12.5 up to 100g/mL) 34.87±2.85; 48.84±4.72; 61.83±4.42; 227.9±15.53] as well PGE2 (C: 72.49±7.28; BbV (3.1 up to 100g/mL) 314.5±39.81; 393.0±7.14; 477.2±17.47; 449.8±26.74; 496.7±26.35; 649.3±30.14; PMA: 296.9±21.31] by neutrophils. In addition, BbV at 4h incubation induced a significant NETs release (C: 100.6±10.02; BbV: 375.3±91.62; 296.6±57.24; 368.2±14.31; 325.2±57.24; 482.6±42.93; 764.4±16.99; PMA: 270.1±36-10) and at 15h (C: 321.4±34.34; 607.6±26.71; 687.7±49.6; 701.1±36.25; 745.0±41.97; 790.8±76.31; 890.0±72.50; PMA: 1987±57.2). Results represent the mean ± SEM of 4 donors. Conclusion: Together, our results showed that BbV triggers relevant proinflammatory events in human neutrophils.

Aluna: JULIANA SOBRINHO; Orientadores: ANDREIMAR MARTINS SOARES, JULIANA PAVAN JULIANI, LEONARDO DE AZEVEDO CALDERON e RODRIGO GUERINO STÁBELI. **Isolation and Biochemical Characterization of two acidic Phospholipases A from Bothrops brazili Snake Venom.** Snake venoms are rich in enzymes such as hyaluronidase, phospholipase A2, proteolytic enzymes, phosphodiesterases and L-amino acid oxidase (LAAO). This enzyme is found in a variety different organism such as bacteria, fungi, green algae, and snake venoms. LAAO has been found to contribute to the toxicity of the venom due to the production of hydrogen peroxide during the oxidation reaction. The exact biological functions of LAAOs on leukocytes are still unknown. The present study was designed to address the effects of LAAO from Calloselasma rhodostoma on isolated human neutrophils. Methods and Results: Neutrophils were obtained from healthy donors by density gradient method. Viability was evaluated through the reduction of MTT. Superoxide and hydrogen peroxide was measured by reduction of NBT and phenol red, respectively. Cytokine production was measured by immunoenzymatic assay. LAAO showed no toxicity on neutrophils. LAAO induced superoxide anion by neutrophils at 100, 50, 25, 12.5µg/mL (0.78±0.04; 0.77±0.02; 0.79±0.02; 0.75±0.01; 0.72±0.02). This toxin is also able to stimulate the production of hydrogen peroxide in neutrophils at 100µg/mL (0.87±0.08) and 50µg/mL (0.59±0.06). Moreover, the incubation of LAAO and phenol red medium did not induce the production of hydrogen peroxide. Furthermore, LAAO was able to stimulate neutrophils to release IL-8 at 100µg/mL (447.4±46.03) and 50µg/mL (251.4±28.74) and TNF-α at 100µg/mL (61.36±12.20) and release NETs 100, 50, 12.5µg/mL (223±10.31; 244.4±30.94; 234±82.50). The results represent the mean ± SEM of 5 donors. Conclusion: Together, the data showed that LAAO stimulates neutrophils and triggers these cells to induce relevant pro inflammatory events.

Aluna: FABIANNE ARAÚJO; Orientador: DEUSILENE SOUZA VIEIRA. **Identificação e Caracterização Molecular de Rinovírus no Estado de Rondônia.** As infecções respiratórias agudas (IRAs) são as principais causa de infecção respiratória em crianças com menos de cinco anos. O *Rinovírus humano* (HRV), vírus de RNA, é o causador mais frequente de IRA no trato respiratório superior, podendo evoluir para quadros infecciosos mais graves em crianças. O HRV estar classificado em espécies A, B, e C que abrange 100 sorotipos diferentes. Este estudo tem por objetivo identificar e caracterizar molecularmente o HRV causadores de infecções respiratórias agudas no Hospital Infantil Cosme e Damião na cidade de Porto-Velho/RO, contribuindo para o conhecimento do patógeno causadores de IRA. Serão selecionados 120 amostras com perfil de IRA. Na primeira PCR foi utilizado primers que amplificam um fragmento de 390 pb e a Nested amplificando um fragmento de 110pb. As amostras positivas será sequenciadas e submetidas a análise filogenética para posterior análise molecular. No Estado de Rondônia não há estudos voltado para identificação de virus causadores de infecção respiratória, resultando de grande relevância estudos para conhecer o perfil do agente viral.

SAÍDA  
DE EMERGENCIA



HARVARD  
SCHOOL OF PUBLIC HEALTH

Disciplina  
Research in the  
Application

Control: From  
Field Course

21th  
Instituições de Rondônia

SUS  
Sistema Único de Saúde

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE