



III SEMANA DE BIOCIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE

FIOCRUZ PERNAMBUCO

De 30 de novembro
a 04 de dezembro de 2015

ANAIS
RESUMOS CIENTÍFICOS

ANAIS

III SEMANA DE BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE **Ciência a Serviço da Sociedade**

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ)
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES (CPQAM)

30 de novembro a 04 de dezembro de 2015
Auditório Frederico Simões Barbosa/CPqAM/Recife-Pernambuco

RECIFE, 2015

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

S471a Semana de Biociências e Biotecnologia em Saúde (3.: 2015: Recife).
Anais / III Semana de Biociências e Biotecnologia em Saúde, 30
de novembro a 4 de dezembro de 2015, Recife. — Recife: Centro de
Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2015.
26 p.

1. Biologia celular. 2. Biologia molecular. 3. Entomologia. 4.
Genética. 5. Imunologia. 6. Microbiologia. 7. Parasitologia. I. Título.

CDU 576

III SEMANA DE BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE

Ciência a Serviço da Sociedade

Coordenação Geral do Evento

MSc. Renan Garcia Gomes

Comissão Científica

Angelica Olivino da Silva

MSc. Anna Lígia de Castro Figueiredo

MSc. Elisa de Almeida Neves

Gabriel Bezerra Faierstein

MSc. Heytor Victor Pereira da Costa Neco

Igor Vasconcelos Rocha

MSc. Leandro Batista Wanderley

Lílian Caroliny Amorim Silva

MSc. Sávio Augusto Vieira de Oliveira

MSc. Tiago Pinheiro Vaz de Carvalho

Comissão Editorial dos Anais

Karla Raíza Cardoso Ribeiro

MSc. Larissa Isabela Oliveira de Souza

Nathaly Alexandre do Nascimento

MSc. Taciana Mirely Maciel Higino

Ressalva: Os textos apresentados são de criação original dos autores, que responderão individualmente por seus conteúdos ou por eventuais impugnações de direito por parte de terceiros.

SUMÁRIO

ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DO GENE E5 DO HPV31 CIRCULANTE NO NORDESTE DO BRASIL.....	05
ANÁLISE HISTOQUÍMICA E MORFOMÉTRICA DO INTESTINO DE RATAS PRENHES EXPOSTOS A DOSAGENS SUBLETAIS DE HERBICIDAS ASSOCIADOS E TRATADAS COM MELATONINA.....	06
AVALIAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E ENDOTELIAIS ENVOLVIDOS NA HIPERTENSÃO PULMONAR (HP) EM CAMUNDONGOS INDUZIDO POR MONOCROTALINA.....	07
AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE INTERLEUCINA-13 APÓS TERAPIA COM MONÓCITOS DE MEDULA ÓSSEA EM MODELO EXPERIMENTAL DE ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA.....	08
AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DO FATOR DE CRESCIMENTO E TRANSFORMAÇÃO- β 1 APÓS TERAPIA COM MONÓCITOS DE MEDULA ÓSSEA EM MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO HEPÁTICA CRÔNICA.....	09
DESENVOLVIMENTO DE SENSOR PIEZOELÉTRICO PARA <i>Klebsiella pneumoniae</i> BASEADO EM PEPTÍDEO ANTIMICROBIANO E NANOPARTÍCULAS DE OURO.....	10
DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE PRIMERS E SONDAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE <i>Leishmania</i> spp. ATRAVÉS DA PCR EM TEMPO REAL.....	11
DETECÇÃO DO DNA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM AMOSTRAS DE CÂNCER DE PULMÃO.....	12
DETECÇÃO DO GENE blaKPC EM ISOLADOS CLÍNICOS DE <i>Klebsiella pneumoniae</i>	13
DETECÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM TUMORES PULMONARES..	14
DIETILCARBAMAZINA ATUA NA RESOLUÇÃO DA INFLAMAÇÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS ATRAVÉS DA APOPTOSE DE NEUTRÓFILOS.....	15

EFEITO DO CITRATO DE SILDENAFIL SOBRE MARCADORES APOPTÓTICOS EM CÉLULAS PRÓSTÁTICAS.....	16
IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE <i>Sporothrix</i> sp. PELA TÉCNICA DE MALDI-TOF/MS EM DIFERENTES PLATAFORMAS TECNOLÓGICAS.....	17
IDENTIFICAÇÃO E CLONAGEM DE DEFENSINAS EM MELÃO-DE-SÃO-CAETANO E OUTRAS CUCURBITACEAS.....	18
INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS EMBRIOCIDA E LARVICIDA DO INIBIDOR DE TRIPSINA DE FLORES DE <i>Moringa oleifera</i> CONTRA O MOSQUITO	19
OCORRÊNCIA DE AGENTES INFECCIOSOS CAUSADORES DE VULVOVAGINITES E VAGINOSE BACTERIANA EM RESULTADOS DE EXAMES DE SECREÇÃO VAGINAL REALIZADOS EM UM HOSPITAL MILITAR/RECIFE-PE.....	20
PONTOS QUÂNTICOS DE ZnSe AMINADOS COMO SONDAS FLUORESCENTES PARA MARCAÇÃO CELULAR.....	21
PURIFICAÇÃO PARCIAL DA L-asparaginase EXCRETADA POR <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ISOLADA DA <i>Poecyanella pyramidalis</i> DO BIOMA CAATINGA.....	22
RNAi FUNCIONA COMO DEFESA DE PRIMEIRA LINHA NO MOSQUITO, DE MANEIRA SIMILAR À VIA INTERFERON γ EM MAMÍFEROS, APÓS INFECÇÃO COM O VÍRUS DENGUE EM MODELOS <i>in vitro</i>	23
SUPLEMENTAÇÃO COM ANTIOXIDANTE MODULA O DANO HEPÁTICO NA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EXPERIMENTAL.....	24
SUSCEPTIBILIDADE DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE SUPERFÍCIES HOSPITALARES E HEMOCULTURAS EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA	25
UTILIZAÇÃO DOS GENES <i>neuC</i> E <i>neuD</i> DO ÁCIDO SIÁLICO COMO ALVO PARA AMPLIFICAÇÃO POR PCR DE BACTÉRIAS DO GÊNERO <i>Streptococcus</i> ..	26

ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DO GENE E5 DO HPV31 CIRCULANTE NO NORDESTE DO BRASIL

Daffany Luana dos Santos^{1,2}, Antônio Humberto Pereira da Silva Júnior^{1,3}, Kamylla Conceição Gomes Nascimento^{1,4}, Bárbara Simas Chagas¹, Ana Pavla Almeida Diniz Gurgel¹, Antonio Carlos de Freitas¹

¹Departamento de Genética. Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental – LEMTE. Universidade Federal de Pernambuco. ²Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas. ³Programa de Pós-Graduação em Genética. ⁴Programa de Pós-Graduação em Inovações Terapêuticas.

O câncer cervical, causado pelos Papilomavírus humano (HPV) de alto risco, segue os estágios de exposição sexual, persistência da infecção, desenvolvimento de lesões pré-cancerosas até o estabelecimento da doença invasiva. Evidências sugerem que a exposição à certas variantes de HPV aumentam o risco de progressão das lesões e que a ação das oncoproteínas E5, E6 e E7 são cruciais na carcinogênese cervical, embora os seus mecanismos de ação ainda não sejam totalmente elucidados. A oncoproteína E5 necessita de mais estudos sobre os mecanismos de (des)regulação imunológica para o estabelecimento de novas estratégias imunoterapêuticas. Tem sua atuação na regulação do crescimento celular, degradação dos receptores celulares e sinalização mitogênica. Contudo, a avaliação da heterogeneidade genética do HPV31 e da variabilidade genética do gene E5 são escassos na população do Nordeste do Brasil. Este trabalho teve como objetivo analisar a variabilidade genética do gene E5 do HPV31, circulante no Estado de Pernambuco. Foram analisadas 261 amostras de escovados cervicais de pacientes atendidas no Hospital das Clínicas de Pernambuco (CAAE: 03606212.7.0000.5208). O total de 136 amostras foram positivas para o DNA do HPV; 74/136 foram positivas para o HPV31. Destas, 10 amostras foram sequenciadas e submetidas à análise de variabilidade genética, utilizando-se o pacote Staden, a ferramenta BLAST e os programas PropredI e II para análise de epítomos imunogênicos. Observaram-se as seguintes variações nucleotídicas no gene E5 de HPV31: A3827G, A3828G, G3956C, A3957G, T3980A, C3981G, G4005A, T4052C e T4053A; e na sequência de aminoácidos, 05 mutações do tipo não-sinônimas nas posições 3828 (N5D), 3957 (I48V), 3981 (P56A), 4005 (V64I) e 4053 (F80I), localizadas em regiões de epítomos de MHC classe I e II. Variantes genéticas do gene E5 do HPV31 podem estar associadas aos diferentes graus das lesões cervicais e na amplificação da ação dos oncogenes E6 e E7 no curso da carcinogênese.

Palavras-chave: E5, HPV31, Variabilidade Genética.

ANÁLISE HISTOQUÍMICA E MORFOMÉTRICA DO INTESTINO DE RATAS PRENHES EXPOSTOS A DOSAGENS SUBLETAIS DE HERBICIDAS ASSOCIADOS E TRATADAS COM MELATONINA

Lécio Leone de Almeida¹, Álvaro Aguiar Coelho Teixeira², Natallyanea Silva Bezerra³,
Valéria Wanderley Teixeira²

¹Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Regional do Cariri ²Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco

³Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco

O uso de herbicidas associados pode condicionar severidade a vários problemas relativos à saúde, podendo então constituir-se em um problema de saúde pública e alvo de constante preocupação por parte da comunidade científica. Neste contexto, o uso de agentes antioxidantes vem sendo estudado, pois há interesse crescente no estudo de substâncias que possam servir como antídoto nas intoxicações por herbicidas. O maior interesse no tratamento das intoxicações tem se concentrado em medidas que impeçam ou minimizem as lesões celulares. Entre os agentes que tem se mostrado benéficos em neutralizar as intoxicações por herbicidas destaca-se a melatonina, devido seu efeito antioxidante e anti-inflamatório em diversos sistemas biológicos. Dessa maneira, a presente pesquisa objetivou analisar a histoquímica e a morfometria do intestino delgado de ratas prenhes submetidas a doses subletais dos herbicidas supracitados. Para tanto, foram utilizadas 15 ratas albinas prenhes que foram subdivididas em 3 grupos, sendo Grupo I (controle), Grupo II, ratas expostas a dose de 50mg/kg de Paraquat associada a 500mg/kg de Glifosato-Roundup® e o Grupo III, ratas expostas a dose de 50mg/kg de Paraquat associada a 500mg/kg Glifosato-Roundup® e tratadas com 10mg/kg de melatonina. Os herbicidas foram administrados por gavagem durante os 7 dias iniciais de gestação e a melatonina por via intraperitoneal. Ao sétimo dia de prenhez as ratas foram anestesiadas, eutanaziadas e o intestino foi coletado, fixado, processado para inclusão em Historessin Leica® e os cortes corados em PAS. A análise morfométrica do intestino revelou redução na altura do epitélio, enquanto na histoquímica observou-se redução da concentração de mucoproteínas secretadas pelo epitélio, porém após o tratamento com melatonina, os valores foram semelhantes aos do controle. Assim, concluímos que a melatonina apresentou atividade protetora sob a mucosa intestinal após exposição aguda aos herbicidas em associação.

Palavras-chave: Herbicidas. Melatonina. Intestino. Histoquímica. Morfometria.

AVALIAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E ENDOTELIAIS ENVOLVIDOS NA HIPERTENSÃO PULMONAR (HP) EM CAMUNDONGOS INDUZIDO POR MONOCROTALINA

Edlene Lima Ribeiro¹, Ingrid Tavares Fragoso², Fabiana Oliveira dos Santos Gomes³,
Amanda Costa Oliviera¹, Amanda Karolina Soares e Silva⁴, Josenildo Alex da Silva
Cavalcanti³, Christina Alves Peixoto⁴
UFPE¹. LIKA². FACIPE³. CPqAM/FIOCRUZ⁴

As doenças pulmonares crônicas afetam milhões de pessoas em todo o mundo, estima-se que a incidência anual da hipertensão pulmonar esteja em torno de um a dois casos por milhão de habitante, sendo uma doença grave, incapacitante e com sobrevivência histórica média de três a cinco anos após diagnóstico. Estudos demonstram que a HP apresenta cunho inflamatório, com presença no tecido pulmonar de infiltrados inflamatórios perivasculares. As lesões da HP incluem a hipertrofia da camada média das artérias pulmonares, devido a excessiva proliferação de células musculares lisas e fibrose. O uso de modelo animal para avaliar o progresso da HP é extremamente importante, devido à sua complexidade, tornando inviável o uso de material humano, além do fato que na maioria dos casos a doença é diagnosticada quando se encontra em estado avançado. Durante as últimas décadas a monocrotalina (MCT) continua a ser um modelo frequentemente investigado para a investigação da HP, uma vez que oferece simplicidade técnica, reprodutibilidade e baixo custo em comparação com outros modelos de HP. Investigamos o desenvolvimento da hipertensão pulmonar via inflamação em camundongos C57Bl com uma injeção intraperitoneal de MCT uma vez por semana, durante 4 semanas (SHAM, MCT7, MCT14, MCT21 e MCT28). Após experimentação os animais foram eutanasiados e os pulmões foram coletados para análise histológica, protéica e expressão gênica. Observamos que a MCT promoveu um aumento da pressão arterial pulmonar, principalmente pelo aumento da resistência vascular pulmonar além de apresentaram exsudação alveolar, edema intersticial, infiltrados celulares inflamatórios e enfisema. Deposição de fibras de colágeno em torno das artérias pulmonares confirmando fibrose e muscularização arterial. Estes resultados caracteriza a evolução do processo inflamatório, com a participação de células, citocinas, fatores de crescimento e estresse oxidativo em um modelo PH induzida pelo MCT.

Palavras-chave: Monocrotalina. Inflamação. Hipertensão Pulmonar.

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE INTERLEUCINA-13 APÓS TERAPIA COM MONÓCITOS DE MEDULA ÓSSEA EM MODELO EXPERIMENTAL DE ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA

Veruska Cíntia A. de Souza¹, Rafaela G. de Andrade^{1,2}, Miria de O. Barbosa^{1,3}, Carlos André L. M. Filho¹, Regina Célia B. Q. Figueiredo¹, Sheilla Andrade de Oliveira¹

¹ Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Pernambuco, Brasil. ² Faculdade Integrada de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil. ³ Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil

A esquistossomose constitui um grande problema de saúde pública. Atualmente não existe tratamento efetivo para a fase crônica da doença, que é caracterizada pela formação de granulomas e fibrose hepática periportal. Diante deste cenário, a terapia celular tem aberto novas perspectivas, onde células de medula óssea têm apresentado bons resultados frente às hepatopatias. Um possível tipo celular responsável pelos efeitos benéficos após terapia com células de medula óssea são os monócitos, células que desempenham um papel importante na resposta imune e nos processos de reparo tecidual. Considerando a plasticidade dos monócitos, estudos têm investigado seu potencial terapêutico frente às doenças hepáticas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da terapia com monócitos, em modelo murino de esquistossomose, sobre os níveis de interleucina-13, citocina considerada como mediador central da patologia hepática na fase crônica da esquistossomose. O modelo experimental foi estabelecido em camundongos C57BL/6 pela infecção com cercárias de *S. mansoni*. Este projeto teve aprovação da Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA 15/2011). Os animais infectados foram submetidos ao tratamento com Praziquantel, previamente à terapia celular. Em seguida foi realizado o transplante de monócitos obtidos de medula óssea de animais doadores. Os efeitos pós-terapia foram avaliados através de análise morfométrica da fibrose hepática e quantificação dos níveis de IL-13 em extrato protéico do fígado de animais submetidos ao transplante. Foi possível observar que, dois meses após o transplante, houve redução significativa no percentual de tecido fibroso hepático no grupo tratado com monócitos. No entanto, não foram observadas diferenças nos níveis de IL-13. Diante desses achados, podemos concluir que os monócitos derivados de medula óssea podem exibir um papel importante na regressão da fibrose hepática em modelo murino de esquistossomose, porém por uma via independente de IL-13.

Palavras-chave: Esquistossomose; terapia celular; monócitos; Fibrose hepática; Interleucina- 13.

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DO FATOR DE CRESCIMENTO E TRANSFORMAÇÃO- β 1 APÓS TERAPIA COM MONÓCITOS DE MEDULA ÓSSEA EM MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO HEPÁTICA CRÔNICA

Veruska Cíntia Alexandrino de Souza¹, Jéssica Paula Lucena^{1,2}, Renata Lins Carneiro Leão¹, Carolline Guimarães D'Assunção³, Regina Célia Bressan Queiroz Figueiredo¹, Sheilla Andrade de Oliveira¹

¹Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Pernambuco, Brasil.

²Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil. ³Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

A terapia celular emerge como uma promissora terapêutica para as doenças do fígado. Várias populações celulares têm sido extensivamente estudadas, e atualmente, células de medula óssea são potenciais candidatas para o transplante. Estudos experimentais e clínicos têm sido conduzidos para avaliar a eficácia terapêutica das diferentes células de medula óssea, onde os monócitos têm se tornado bastante atrativos, devido à sua plasticidade e conhecida participação em diversos processos, tais como o reparo tecidual. Um possível alvo terapêutico no tratamento da doença crônica do fígado é o Fator de Crescimento e Transformação-Beta1 (TGF- β 1), uma molécula sinalizadora chave na fibrose hepática. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do transplante de monócitos derivados da medula óssea em modelo experimental de fibrose hepática, através da quantificação dos níveis de TGF- β 1. Para isso, a lesão hepática foi induzida em camundongos C57BL/6 pela administração de Tetracloreto de Carbono diluído em azeite de oliva, e Etanol, durante quatro meses. Este projeto teve aprovação da Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA 15/2011). Após estabelecimento da lesão, realizou-se o transplante de monócitos obtidos de medula óssea de animais doadores. Os efeitos pós-tratamento foram avaliados através de morfometria do tecido fibroso hepático e quantificação dos níveis de TGF- β 1 em sobrenadante de cultura de esplenócitos de animais submetidos ao transplante celular. Dois meses após a terapia, foi observada diminuição significativa nos níveis de TGF- β 1 em animais que receberam monócitos, quando comparados ao grupo não tratado. Consistente com esses resultados observou-se redução significativa no percentual de tecido fibroso hepático no grupo tratado com monócitos. Diante desses achados, podemos concluir que os monócitos derivados de medula óssea podem exibir um papel importante na regressão da fibrose hepática em modelo murino

Palavras-chave: Terapia Celular. Monócitos. Fibrose Hepática.

DESENVOLVIMENTO DE SENSOR PIEZOELÉTRICO PARA *Klebsiella pneumoniae* BASEADO EM PEPTÍDEO ANTIMICROBIANO E NANOPARTÍCULAS DE OURO

¹Thaynara Millena de Oliveira Bezerra, ¹César Augusto de Souza Andrade, ² Octavio Luiz Franco, ³Idjane Santana de Oliveira, ¹Maria Danielly Lima de Oliveira

¹Departamento de Bioquímica, UFPE, Recife, PE. ²Centro de Proteômica de Brasília, Universidade de Brasília, Brasília, DF. ³Centro Acadêmico de Vitória, UFPE, Recife, PE.

As infecções bacterianas se tornaram um grande problema mundial devido à resistência de alguns microrganismos. Dentre eles o *Klebsiella pneumoiae* é um agente etiológico que pode causar graves infecções. Os biossensores são dispositivos que oferecem sensibilidade para detecção dos microrganismos, além de possuir vantagem, pois apresentam rapidez e baixo custo. A partir das propriedades das nanopartículas e da ação do peptídeo de escolha é que foi desenvolvida uma plataforma biossensora baseada em ouro para imobilização de Clavanina A e detecção de *K. pneumoniae*. Inicialmente, injetou-se solução aquosa de L-Cisteína (Cys) para modificação química do cristal. Após a injeção da Cys o fluxo foi desligado. Em seguida foi injetada uma solução recém-preparada de EDC:NHS em conjunto com nanopartículas de ouro (NPsAu) modificadas com cisteína e a Clav A, os quais ficaram em contato com o cristal por 30 min. Após a obtenção do sistema, o mesmo foi exposto a 100 µL da bactéria *Klebsiella pneumoniae* em diferentes concentrações e após 20 min foi realizada a análise dos valores finais de frequência e resistência em função do tempo. Os ensaios foram realizados em triplicata utilizando, pelo menos, três sensores diferentes A adsorção da bactéria resulta em respostas que confirmam o aumento da massa na superfície do cristal de quartzo, associado à redução da frequência do sensor. Na primeira etapa foi adicionada a Cys para a formação da monocamada automontada e em seguida, a adição da solução (EDC:NHS)-NPsAuCys-clavA causa um novo decremento da frequência. Após 5 min o sistema adquire estabilidade e posteriormente avaliada sua interação com as diferentes concentrações da bactéria. O sistema Cys-NPsAuCys-ClavA foi capaz de detectar a bactéria *Klebsiella pneumoniae*, o mesmo foi sensível e pode ser uma excelente alternativa para o diagnóstico de infecções bacterianas.

Palavras-chave: Piezoelétrico. *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrobiano.

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE PRIMERS E SONDAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE *Leishmania* spp. ATRAVÉS DA PCR EM TEMPO REAL

Tayná Correia de Goes, Rayana Carla Silva de Moraes, Sinval Pinto Brandão-Filho, Milena de Paiva Cavalcanti
CPqAM/FIOcruz

A PCR quantitativa em tempo real (qPCR) por sua versatilidade permite a identificação de espécies de *Leishmania*, tornando-se uma alternativa ao diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), pois a doença apresenta um pleomorfismo clínico significativo dependendo da espécie envolvida bem como, da resposta imune do paciente. Objetiva-se desenvolver uma qPCR-multiplex (TaqMan probe) para identificação de *Leishmania* spp. relacionadas com a etiologia da LTA. Através do software MEGA, realizou-se um alinhamento múltiplo das sequências de *Leishmania* spp. disponíveis no GenBank para os alvos Citocromo b, ITS1, kDNA, SSUrDNA e HSP70. Após análise, o alvo ITS1 foi escolhido, por apresentar sequências preservadas para as espécies em estudo. Conseqüente, foram desenhados, com auxílio do software Primer Blast, dois sistemas de primers e sondas: Sistema Subgênero Viannia (SSV) e Sistema *Leishmania amazonensis* (SLa). Após análise *in silico* confirmou-se a especificidade das sequências para as espécies abordadas. O SSV tem como primers SVF2 5'TAGCAAGCCTTTCCCACAG3'(C/G 53%, Tm 58°C), SVR 5'CGACGTTAACATATCGCGTA3'(C/G 45%, Tm 58°C) e sonda SSV 5'CCCACAGATACGCAATAACAATCTA3'(C/G 42%, Tm 68°C). O SLa é formado pelos primers LaF 5'ATGGCCGATCGACGTTATAG3'(G/C 50%, Tm 60°C), LaR 5'TGCGTGTGTGGATAACGGCT3'(G/C 55%, Tm 62°C) e sonda Sla 5'AATGCCCGTTTCAATACGGCGTT3'(C/G 48%, Tm 68°C). Para definição das concentrações de uso, testou-se primers a 2,0 e 3,0 pmol/μL; e sondas de 0,5 a 2,0 pmol/μL, utilizando como amostra o DNA de *Leishmania braziliensis* para o SSV e de *L. amazonensis* para o SLa. As concentrações definidas foram: 3,0 pmol/μl dos primers e 2,0 pmol/μl de sonda para o SSV; 2,0 pmol/μl de primers e 2,0 pmol/μL de sonda para o SLa. Após avaliação de especificidade e sensibilidade, os sistemas irão compor uma qPCR multiplex, podendo superar as expectativas do diagnóstico, fornecendo quantificação da carga parasitária e identificação da espécie em uma única reação.

Palavras-chave: Leishmaniose tegumentar Americana. qPCR multiplex. Sondas.

DETECÇÃO DO DNA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM AMOSTRAS DE CÂNCER DE PULMÃO

Rômulo Wamberto De O. Silva¹, Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto², Bianca de França São Marcos³, Carolina Amaral⁴, Dafne C. Alves Quixabeira⁵, Antônio Carlos de Freitas⁶

¹Estudante do Curso de Biomedicina- CCB – UFPE. ²Docente/pesquisador do Depto de Histologia e Embriologia – CCS – UFPE. ³Departamento de genética - CCS – UFPE. ⁴Departamento de genética - CCS – UFPE. ⁵Departamento de Patologia - CCS- UFPE ⁶Docente/pesquisador do depto de genética - CCS - UFPE.

A investigação da(s) causa(s) do câncer de pulmão em não fumantes é de extrema importância para o desenvolvimento de terapias específicas, visto que o perfil molecular dos tumores em pacientes que nunca fumaram difere daquele de pacientes fumantes. Embora alguns estudos apontem o Papilomavírus Humano (HPV) como a segunda causa dessa doença (atrás do tabaco), a participação desse vírus no desenvolvimento desse tipo de câncer ainda é incerta. Este trabalho teve como objetivo, investigar a presença do DNA de HPV em tecido pulmonar de pacientes com câncer de pulmão. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) sob o CAAE no. 06396812.0.0000.5208, obedecendo integralmente os princípios éticos estabelecidos na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). A extração do DNA foi feita através do kit de extração GenominPrep Blood DNA isolation (Ameshan Bioscience), seguindo as instruções do fabricante. A detecção do DNA de HPV foi feita através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) convencional, com a utilização dos primers consenso e degenerados MY09/MY11, como descrito por Kay et al. (2002). A tipificação das amostras positivas para a detecção do DNA de HPV foi realizada através do sequenciamento utilizando primers para os HPV 6, 11, 16, 18, 31 e 33. Entre as 52 amostras analisadas, 46 foram submetidas à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com a utilização dos primers consenso e degenerados MY09/MY11 a fim de se verificar a presença de DNA viral. Dessas 46 amostras, 76,09% não apresentaram DNA de HPV, enquanto 23,91% apresentaram DNA do vírus. Em seguida, as 11 amostras que apresentaram DNA viral foram submetidas a sequenciamento para identificação dos tipos virais presentes. Os tipos de HPV encontrados foram os HPV-16 e HPV-18.

Palavras-chave: Papilomavírus humano. DNA. Câncer de pulmão. Tipificação.

DETECÇÃO DO GENE blaKPC EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *Klebsiella pneumoniae*

Heitor Alexander Santos, Dyana Leal Veras, Luiz Carlos Alves, Fábio André Brayner, Carmelita de Lima Bezerra Cavalcanti, Catarina Fernandes de Freitas, Fernanda Cristina

Gomes de Lima

CPqAM/FIOcruz

A espécie bacteriana *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC causadora de infecções relacionadas à assistência à saúde (IrAS) apresentam um risco maior de agravo a saúde devido a produção de carbapenemases, diminuindo assim a eficácia de antibióticos carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem). O objetivo deste estudo foi determinar a concentração inibitória mínima (MIC) do meropenem e detectar a presença do gene blaKPC. Foram utilizados 11 isolados de *K. pneumoniae*, provenientes de amostras clínicas de pacientes internados em hospital público da cidade de Recife-PE, previamente identificados quanto a espécie e com perfil de susceptibilidade para várias classes de antibióticos determinado através do equipamento VITEK 2 no hospital de origem. Para a determinação do MIC do meropenem para os 11 isolados foi realizada a técnica de microdiluição em caldo Mueller-Hinton, foi utilizado a cepa de referência ATCC 25922 de *Escherichia coli*, como controle de qualidade, segundo recomendações e critérios do CLSI, 2013. Para a detecção do gene blaKPC, primeiramente foi realizada a extração de DNA total utilizando o kit Wizard® Genomic DNA purification Kit (Promega). Em seguida, foram utilizados os iniciadores: 5'-TGTCAGTGTATCGCCGTC-3' e 5'-CTCAGTGCTCTACAGAAAACC-3' (YIGIT et al., 2001) para a amplificação do gene blaKPC pela técnica de PCR. De acordo com o antibiograma gerado pelo VITEK, oito isolados foram resistentes ao meropenem, enquanto na microdiluição seis isolados foram resistentes, a discrepância pode se dar ao fato pela microdiluição ser um teste mais sensível que a macrodiluição. O gene blaKPC estava presente em todos os isolados de *K. pneumoniae* resistentes ao antibiótico. Dez isolados analisados também apresentaram genes de virulência fimH e mrkD. Diante dos resultados, conclui-se que a ocorrência de isolados de *K. pneumoniae* KPC positivos em IrAS é significativa, um fator que dificulta a assistência e a seleção de alternativas terapêuticas eficazes.

Palavras-chave: *Klebsiella pneumoniae*. blaKPC. Resistência bacteriana. MIC.

DETECÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM TUMORES PULMONARES

Fábio Rodrigo Barbosa Dutra Nascimento, Carolina do Amaral,
Dafne Carolina Alves Quixabeira, Bianca de França São Marcos,
Jacinto da Costa Silva Neto, Antonio Carlos de Freitas.

UFPE

O câncer de pulmão é o mais comum de todos os tumores malignos, apresentando aumento de 2% por ano na sua incidência mundial. No Brasil, foi responsável por 22.424 mortes em 2011. O tabagismo tem sido responsável por 80 a 90% dos casos de câncer de pulmão, enquanto 10 a 20% têm sido atribuídos a outros fatores, dentre eles a infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) de alto risco. A capacidade carcinogênica viral é conferida pela ação das oncoproteínas (E6 e E7), as quais apresentam capacidades transformantes. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença do HPV em tumores de pulmão. Para tal, foram utilizados blocos de tumores pulmonares parafinados de 68 pacientes do setor de pneumologia do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC) do estado de Pernambuco, Brasil. A detecção do DNA do HPV foi feita através da reação de PCR utilizando primers degenerados (MY 09/11) e primer GP 5/6 que anelam na região conservada do gene L1 do vírus. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese e examinados em gel de agarose 2%. Os produtos de PCR que foram positivos para HPV foram tipificados por sequenciamento. Das 68 amostras, 28 (41%) foram positivas para HPV. Os tipos virais identificados foram HPV 16 (75%) e 18 (25%). Este resultado corrobora com trabalhos prévios, que afirmam que o HPV 16 foi o mais frequente em tumores de pulmão no mundo seguido pelo HPV18. A frequência do DNA de HPV de alto risco detectada neste estudo foi maior que aquela detectada nos estudos realizados em quatro países da América Latina – 28%, sendo 40% (7 casos) HPV 16 seguido do HPV 18 – 20% (2 casos) em amostras de pacientes do México, Colômbia e Peru. Nosso estudo revelou uma alta incidência de DNA de HPV em tumores de pacientes com câncer de pulmão. No entanto, estudos adicionais são necessários para confirmar a hipótese de que o HPV pode estar atuando como um fator etiológico no desenvolvimento do câncer de pulmão.

Palavras-chave: Tumores pulmonares; HPV; DNA.

DIETILCARBAMAZINA ATUA NA RESOLUÇÃO DA INFLAMAÇÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS ATRAVÉS DA APOPTOSE DE NEUTRÓFILOS

Ingrid Tavares Fragoso, Edlene Lima Ribeiro, Fabiana Oliveira dos Santos Gomes,
Mariana Aragão Matos Donato, Amanda Karolina Soares Silva, Amanda Costa de
Oliveira, Christina Alves Peixoto
CPqAM/FIOcruz

A Dietilcarbamazina (DEC) é o fármaco filaricida mais amplamente utilizado no tratamento e controle da filariose. Diversos estudos tem mostrado que DEC apresenta propriedades anti-inflamatórias e está envolvida também na via apoptótica. A apoptose de células inflamatórias como neutrófilos é um mecanismo essencial de resolução da inflamação e contribui para atenuação da lesão pulmonar aguda (LPA). O objetivo deste trabalho foi analisar a ação da DEC sobre a LPA induzida por lipopolissacarídeo (LPS) através de análises histológicas e ultraestruturais, níveis de mediadores inflamatórios no lavado broncoalveolar (LBA) e expressão de proteínas regulatórias da apoptose no tecido pulmonar de camundongos inoculados com LPS por via intranasal. Trinta camundongos (CEUA 51/2013) machos da linhagem C57BL6/J com 21 dias de idade foram divididos em três grupos (n=10): grupo controle (recebeu apenas água), grupo LPS (recebeu apenas LPS 1mg/kg) e grupo DEC (recebeu LPS 1mg/kg e DEC 50mg/kg/dia diluída em água). Os animais receberam água ou água com DEC durante três dias e no terceiro dia foram submetidos à administração de LPS. Após 24 horas, os animais foram eutanasiados e o LBA e pulmões foram coletados e processados para microscopia ótica e eletrônica, imunohistoquímica, TUNEL e Western Blot (WB). O tratamento com DEC diminuiu significativamente os mediadores inflamatórios no LBA e a histologia mostrou a atenuação dos danos teciduais e infiltrado neutrofílico no pulmão. A análise da expressão de proteínas envolvidas na via da apoptose por imunohistoquímica e WB demonstraram que DEC aumentou os níveis das proteínas pró-apoptóticas promovendo morte de neutrófilos e contribuindo para resolução da inflamação e atenuação dos danos causado pelo LPS, além disso, o tratamento também aumentou o número de células TUNEL positivas no tecido pulmonar. Em conjunto, nossos resultados demonstraram que DEC é um potencial fármaco para tratamento de doenças inflamatórias pulmonares.

Palavras-chave: Dietilcarbamazina. Apoptose. Inflamação. Resolução. Lipopolissacarídeo.

EFEITO DO CITRATO DE SILDENAFIL SOBRE MARCADORES APOPTÓTICOS EM CÉLULAS PRÓSTÁTICAS

Amanda Costa Oliveira¹, Fabiana Oliveira dos Santos Gomes², Edlene Lima Ribeiro¹, Ingrid Tavares Fragoso³, Amanda Karolina Soares Silva⁴, Christina Alves Peixoto⁴

¹ UFPE. ² FACIPE. ³ LIKA. ⁴ CPqAM

O Sildenafil é um inibidor potente e seletivo da fosfodiesterase-5 (PDE5), sendo utilizado para uso terapêutico na disfunção erétil e, atualmente, vem sendo usado no tratamento da hipertensão pulmonar. Este inibidor, possui uma eficácia terapêutica em doenças inflamatórias crônicas, podendo apresentar um potencial em diferentes patologias, entre elas, uma atenção especial às patologias relacionadas ao trato urogenital masculino. Uma vez que o Sildenafil tem potencial anti-inflamatório, é possível que seja efetivo em melhorar o quadro clínico da prostatite crônica induzido por injeção intrauretral de LPS em camundongos C57BL/6. Camundongos machos, púberes, foram separados em cinco grupos: controle, sildenafil, LPS, LPS/Sildenafil-15 e LPS/Sildenafil-20. Onde a indução por LPS foi induzida via uretral durante 30 dias e a solução de sildenafil administrada na concentração de 25mg/kg através de garrafas de água. No final do tratamento, a próstata foi processada para microscopia e western blot. Na análise histológica, a próstata dos grupos controle e sildenafil apresentaram morfologias padrões preservadas. Os animais induzidos com LPS apresentaram infiltrados inflamatórios, hiperplasia, focos hemorrágicos, atipia estromal e epitelial, alterações acinares, presença de estroma denso e células apresentaram núcleos picnóticos. Já o grupo tratado com sildenafil apresentou características morfológicas semelhante ao grupo controle. Na análise da via apoptótica, pela expressão das caspases, o grupo tratados durante 15 dias não apresentou diferenças na expressão protéica. Já o grupo tratado com Sildenafil nos últimos 20 dias, apresentou uma redução da expressão das caspases. De acordo com os nossos resultados o sildenafil apresentou melhoras nas alterações causadas pelo LPS, podendo ser utilizado como um fármaco para tratamento das alterações prostáticas induzida por LPS.

Palavras-chave: Próstata. Sildenafil. LPS.

IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE *Sporothrix* sp. PELA TÉCNICA DE MALDI-TOF/MS EM DIFERENTES PLATAFORMAS TECNOLÓGICAS

Carlos Alberto Tiburcio Valeriano, Ertênia Paiva Oliveira, Rodrigo Niskier Ferreira Barbosa, Oliane Maria Correa Magalhães, Armando Marsden Lacerda, Rejane Pereira Neves, Reginaldo Gonçalves de Lima Neto

UFPE

A espectrometria de massa por tempo de voo (MALDI-TOF/MS) apresenta relevância na identificação de micro-organismos pela acurácia e reprodutibilidade demonstradas em vários estudos. Objetivamos avaliar a aplicação de um protocolo de identificação, desenvolvido para plataforma SARAMIS (Kratos Analytical, Shimadzu, UK) em espectrômetro que utiliza plataforma Biotyper (BrukerDaltonics, Germany), para identificação de isolados do Complexo *Sporothrix*, fungo termodimórfico causador da esporotricose, micose sub-cutânea que acomete humanos e animais domésticos. A análise seguiu o método de Oliveira et al., 2014 adaptado. Três isolados de *Sporothrix* sp. foram cultivados em ágar Sabouraud a 25 °C por sete dias, para identificação taxonômica, e subcultivados em Infusão Cérebro-Coração (BHI) em caldo, e ágar Extrato de Levedura Peptona Dextrose (YEED) a 35°C para se obter fase leveduriforme. Adicionou-se 300 µL de água a um fragmento de cada colônia e 900 µL de etanol em Eppendorfs. Amostras foram vortexadas, centrifugadas e o pellet obtido, resuspendido em 50µL de ácido fórmico a 30%. Amostras foram sonicadas à 25 °C por 15 min e incubadas a 4 °C por 1 h. Sobre a placa em aço do equipamento foi dispensado 1 µL do sobrenadante e, posteriormente, 1 µL de matriz CHCA, em duplicata. O aparelho foi calibrado à variação de massa de 2-20 kDa, e os espectros, gerados pela soma de 2400 tiros, analisados no software MaldiBiotyper 3.0™. Um isolado cultivado em YEED, foi identificado como *Sporothrix schenkkii*. Outro apresentou Score de identificação próximo. Não se atingiu a identificação de isolados cultivados em BHI. MALDI-TOF/MS apresenta-se como ferramenta confiável para identificação de micro-organismos. YEED mostrou-se promissor no cultivo do fungo para análise na plataforma Bruker. As adaptações consideraram as diferenças entre os equipamentos, porém não surtiram o efeito desejado demonstrando que técnicas de extração devem estar em consonância com a plataforma do aparelho a ser utilizado.

Palavras-chave: Espectrometria de Massa. Espectrômetro. MALDI-TOF/MS. Identificação. *Sporothrix*.

IDENTIFICAÇÃO E CLONAGEM DE DEFENSINAS EM MELÃO-DE-SÃO-CAETANO E OUTRAS CUCURBITACEAS

Iara Carolina Milanez Maia, Jessica Barboza, Ana Maria Benko-Iseppon, Luis Carlos Belarmino
UFPE

Como todos os organismos multicelulares, os vegetais possuem um mecanismo de defesa contra microrganismos patogênicos, os peptídeos antimicrobianos AMPs (antimicrobial peptides), dentre os quais existem as defensinas que formam uma classe de pequenos peptídeos que apresentam atividade antimicrobiana. O melão-de-são-caetano (*Mormodica charantia*) é uma planta utilizada na medicina popular e suas propriedades farmacológicas e antimicrobianas já foram comprovadas cientificamente. Em vista do potencial desta espécie o presente projeto objetivou selecionar uma defensina do seu transcriptoma para realização da modelagem de sua estrutura, além do desenho *in silico* de primers de possíveis homólogos nos genomas de três cucurbitaceae: *Cucumis melo*, *Cucumis sativus*, *Citrullus lanatus*, usando como molde defensinas conhecidas através de ferramentas de bioinformática. Na mineração dos dados foram utilizados bancos de dados presentes no NCBI, ferramentas blast e ORF Finder para determinação do peptídeo maduro, enquanto na modelagem 3D das defensinas foi utilizado o SWISS-MODEL. O desenho dos pares de primer foi realizado utilizando o Primer3plus e o picPrimer para a PCR *in silico* e validação dos mesmos. A predição comparativa da estrutura gênica foi realizada através da proteína codificada, usando o programa FGENESH+. A metodologia descrita possibilitou obter cinco estruturas de defensinas com alto grau de similaridade e um enovelamento altamente conservado, bem como a obtenção de 75 pares de primers. Estas defensinas deverão ser exploradas para estudo de sua atividade e desenvolvimento de peptídeos com eficácia melhorada. O desenho e a validação *in silico* de primers é uma alternativa simples e eficaz, pois utiliza apenas programas que são disponíveis gratuitamente na internet, os resultados obtidos com esses programas são bastante confiáveis. Os primers aqui descritos foram enviados para síntese para dar continuidade aos estudos na fase *in vitro*.

Palavras-chave: Bioinformática. Defensinas. Desenho de Primers. Biotecnologia. Modelagem Molecular.

INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS EMBRIOCIDA E LARVICIDA DO INIBIDOR DE TRIPSINA DE FLORES DE *Moringa oleifera* CONTRA O MOSQUITO *Aedes aegypti*

Welton Aaron de Almeida, Emmanuel Viana Pontual, Nataly Diniz de Lima Santos,
Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro, Thiago Henrique Napoleão, Patrícia Maria
Guedes Paiva

UFPE

A picada do mosquito *Aedes aegypti* pode transmitir dengue, febre amarela, febre chikungunya e a febre zika. Os ovos e as larvas do mosquito têm sido considerados alvos mais promissores para controle populacional. O extrato salino de flores da planta pantropical *Moringa oleifera* contém uma proteína inibidora de tripsina (MoFTI) e é tóxico para larvas de *A. aegypti* no quarto instar. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos embriocida e larvicida de MoFTI contra *A. aegypti* e o seu efeito no desenvolvimento das larvas. Flores frescas (50 g) foram homogeneizadas em NaCl 0,15 M (100 mL) utilizando um liquidificador. A mistura resultante foi filtrada e correspondeu ao extrato de flores que foi aplicado em coluna de Tripsina-Agarose para isolamento de MoFTI. A coluna foi equilibrada com tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0 e eluída com KCl-HCl 0,1 M pH 2,0. A atividade inibidora de tripsina de MoFTI foi quantificada por ensaio em microplaca utilizando tripsina bovina e o substrato N- α -benzoi-DL-arginina-p-nitroanilida. Para investigar o efeito embriocida, 50 \pm 10 ovos de *A. aegypti* foram imersos em 20 mL de MoFTI (0,05 a 0,5 mg/mL). Água de torneira foi utilizada como controle. O número de larvas eclodidas, a taxa de sobrevivência e o estágio de desenvolvimento das larvas foram avaliados após 72 h de incubação a 28 °C. MoFTI foi isolado com atividade inibidora de tripsina de 6,5 U/mg e não apresentou efeito embriocida, uma vez que não interferiu significativamente ($p>0,05$) na taxa de eclosão dos ovos. Por outro lado, o inibidor causou mortalidade das larvas recém-eclodidas com CL50 (concentração necessária para matar 50% das larvas) de 0,3 mg/mL. MoFTI bloqueou o desenvolvimento das larvas, uma vez que após 72 h, as mesmas não ultrapassaram o primeiro instar, enquanto as larvas controle estavam no terceiro estágio. Em conclusão, MoFTI constitui um princípio ativo das flores de *M. oleifera* contra *A. aegypti* por causar mortalidade das larvas e atrasar seu desenvolvimento.

Palavras-chave: Atividade inseticida. Inibidor de protease. Dengue. Desenvolvimento larval.

OCORRÊNCIA DE AGENTES INFECCIOSOS CAUSADORES DE VULVOVAGINITES E VAGINOSE BACTERIANA EM RESULTADOS DE EXAMES DE SECREÇÃO VAGINAL REALIZADOS EM UM HOSPITAL MILITAR/RECIFE-PE

Jacqueline Batista dos Santos¹, Aldenize Pimentel de Souza², Edson Barbosa de Souza³,
Luciana da Silva Macedo⁴, Nicácio de Oliveira Freitas⁵, Antônio José Alves⁶

¹II curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas, UFPE. ²Hospital das Clínicas, UFPE.

³Hospital Universitário Lauro Wanderley, UFPB. ⁴Hospital Militar de Área de Recife. ⁵Secretaria de Educação de Pernambuco. ⁶Professor Titular e do II curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas, UFPE

As vulvovaginites e vaginose bacteriana é uma das principais procura de mulheres em idade reprodutiva e economicamente ativa aos ginecologistas. Informações da ocorrência de agentes infecciosos frequentes são importantes para o fortalecimento dos dados epidemiológicos e das políticas em saúde pública destinadas ao controle e tratamento desses agravos. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi de registrar a ocorrência de agentes infecciosos das vulvovaginites e vaginose bacteriana nos exames de secreção vaginal realizados num laboratório de análises clínicas. Foi realizada uma pesquisa documental e descritiva nos laudos dos exames de secreção vaginal de pacientes usuárias de um Hospital Militar de Recife-PE. Os dados mostram que os agentes infecciosos mais comuns encontrados nos resultados dos exames foram a *Trichomonas vaginalis*, *Candida* sp., *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* sp. e *Bacteroides* sp. Os elementos sugestivos de diagnóstico de vaginite por fungos foram observadas por meio da presença de estruturas leveduriformes, esporuladas e filamentosas com percentuais de frequência de respectivamente de 15,6%; 15,6% e 19,6%, nos resultados analisados. As estruturas fúngicas com maior percentual de ocorrências foram as hifas em cerca de 20% dos resultados de exames estudados. Leucócitos polimorfonucleares (PMN) estavam presentes em mais de 37% dos resultados de exames analisados, enquanto que ClueCell (13,7%), bacilos gram-negativos curtos (23,5%) e bacilos gram-negativos curvos (25,5%) sendo considerados elementos sugestivos de vaginose bacteriana. De acordo com os percentuais obtidos nesse estudo, certifica-se que os agentes causadores de vaginose bacteriana(Bacilos gram negativos curtos e os curvos) e vulvovaginites (*Candida* sp) foram identificados em maior frequência nos laudos avaliados, bem como a leucocitose também pode estar associada a quadros de vaginose bacteriana, e não apenas a vaginites como descrito na literatura.

Palavras-chave: Microbiota Vaginal. Saúde Da Mulher. Vulvovaginites. Vaginose Bacteriana.

PONTOS QUÂNTICOS DE ZnSe AMINADOS COMO SONDAS FLUORESCENTES PARA MARCAÇÃO CELULAR

Igor Mota Rodrigues de Moura, Paulo Euzébio Cabral Filho, Goreti Pereira, Adriana Fontes, Giovannia Araújo de Lima Pereira, Beate Saegesser Santos

UFPE

Pontos quânticos (PQs) são nanocristais fluorescentes de semicondutores que possuem propriedades ópticas únicas, tais como: largo espectro de absorção e alta fotoestabilidade e, por isso, têm sido utilizados como sondas fluorescentes para sistemas biológicos. Atualmente, os PQs mais utilizados contém cádmio que é tóxico para os seres vivos, logo, uma alternativa seria a substituição desse metal pelo zinco (Zn). Estudos recentes de síntese de PQs de seleneto de zinco (ZnSe) exploram mais o uso de funcionalizantes carboxilados, que apresentam pH~11, enquanto PQs com cisteamina (Cis) apresentam pH~6,0 e, portanto, mais próximo ao pH dos sistemas biológicos. Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi sintetizar PQs de ZnSe funcionalizados com Cis e avaliar o potencial de marcação inespecífica de células (neste estudo hemácias e leveduras) por microscopia de fluorescência. PQs de ZnSe-Cis foram preparados em água, entre 80 e 100 °C, utilizando como precursores ZnCl₂, Cis e SeO₂, numa proporção molar de Zn:Se:Cis de 2:1:2,4. Os PQs foram sujeitos a fotoativação (FA) na região UV (300-400 nm) por 90 min. Hemácias e leveduras de *Candida albicans* foram lavadas, resuspensas para 10⁶ células.mL⁻¹ e incubadas com os PQs FA. Após lavagens, as células foram analisadas por microscopia de fluorescência. Os PQs de ZnSe-Cis foram sintetizados com alta estabilidade e emissão na região do azul ($\lambda_{em} = 400$ nm). A FA resultou no melhoramento na intensidade da emissão. Os PQs mostraram-se excelentes marcadores, tanto de hemácias quanto de leveduras, possibilitada pela interação eletrostática entre PQs aminados (carga positiva) e a carga negativa da membrana das células ou parede celular dos fungos. Estes resultados mostram ser possível a utilização dos PQs de ZnSe-Cis como sondas fluorescentes diagnósticas de baixa citotoxicidade em diferentes sistemas biológicos e como ferramentas na elucidação de processos biológicos em diversas doenças.

Palavras-chave: Pontos Quânticos. Cisteamina. Hemácias. *Candida albicans*.

RNAi FUNCIONA COMO DEFESA DE PRIMEIRA LINHA NO MOSQUITO, DE MANEIRA SIMILAR À VIA INTERFERON γ EM MAMÍFEROS, APÓS INFECÇÃO COM O VÍRUS DENGUE EM MODELOS *in vitro*

Yury Yzabella da Silva, José Valter Joaquim Silva Júnior, Marli Tenório Cordeiro, Laura Helena Vega Gonzales Gil, Tereza Magalhães
CPqAM/FIOcruz

A dengue é uma doença viral de grande impacto na saúde pública mundial. No Brasil, o *Aedes aegypti* é responsável pela transmissão do vírus dengue (DENV) e o *Aedes albopictus*, potencial vetor, está se disseminando no país. A avaliação da interação vírus-vetor torna-se importante para a elucidação de mecanismos antivirais e identificação de cepas virais potencialmente patogênicas, além de fornecer informações sobre a virologia molecular do DENV, sendo o cultivo celular uma importante plataforma para a geração desses conhecimentos. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a cinética de replicação de isolados do vírus dengue sorotipo 2 (DENV-2) em duas linhagens fenotipicamente distintas derivadas de mosquitos do gênero *Aedes*, inferindo, assim, como as características fenotípicas de cada tipo celular influencia no comportamento dos vírus analisados. Para isso, foi realizada a curva de replicação, durante sete dias, a intervalos de 24 horas, nas linhagens celulares C6/36 e Aag2, de cinco isolados primários de DENV-2 e de um isolado adaptado em laboratório (DENV-2 New Guinea C) a uma Multiplicity of Infection (MOI) de 0,1. A comparação da curva dos seis vírus nas linhagens C6/36 e Aag2 demonstra, de modo geral, uma replicação diminuída em Aag2 quando comparada à C6/36, principalmente nos tempos iniciais. É provável que a replicação inicial mais lenta de isolados de DENV-2 em Aag2 seja consequência de uma via funcional de RNAi, presente em Aag2 e ausente em C6/36, que parece suprimir a replicação viral mediante a interação RNAi-NS4 viral. Experimentos realizados em paralelo em células humanas com ou sem produção de IFN- γ , indicam que a via do RNAi, em analogia à do IFN- γ em mamíferos, atua como uma primeira linha de defesa em mosquitos. Diante disso, os dados aqui apresentados podem contribuir para o aprofundamento do conhecimento sobre as interações DENV-mosquito.

Palavras-chave: Resposta imune de insetos. Interação vírus-hospedeiro. RNA de Interferência. C6/36. Aag2.

SUPLEMENTAÇÃO COM ANTIOXIDANTE MODULA O DANO HEPÁTICO NA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EXPERIMENTAL

Clênio Silva da Cruz, Daniel Francisco Pereira Junior, Eliana Domingues Nunes, Victor Hugo Barbosa dos Santos, André de Lima Aires, Mônica Camelo Pessoa de Azevedo
Albuquerque
UFPE

Alterações hepáticas causadas pelo ovo do *S. mansoni* são importantes, devido as modificações funcionais teciduais e bioquímicas causadas pela reação granulomatosa. Praziquantel (PZQ) é a droga de escolha no tratamento da esquistossomose, no entanto não modula a inflamação granulomatosa. Assim, estudos com drogas hepatoprotetoras tem sido alvo terapêutico na esquistossomose. Com este perfil, a N-acetil-L-cisteína (NAC) modula danos em doenças hepáticas devido as suas propriedades anti-inflamatório, antioxidante e desintoxicante. Avaliar os efeitos da suplementação com NAC sobre marcadores de danos hepático na esquistossomose mansoni aguda experimental. Camundongos infectados com *S. mansoni* foram distribuídos de acordo com a intervenção terapêutica: Controle, NAC, PZQ e NAC+PZQ. Dois grupos de animais não infectados foram distribuídos em: Controle e NAC. NAC foi administrada, via oral na dose de 200 mg/kg/dia, do 1° até 60° dia após infecção. PZQ foi administrado, via oral na dose de 100 mg/kg/dia, por 5 dias consecutivos a partir do 45° dia de infecção. Todos os grupos foram eutanasiados no 61° dia após infecção e do soro obtido, realizada a análise bioquímica de alanina transaminase (AST) aspartato transaminase (ALT), fosfatase alcalina (FA) e albumina (ALB). O Controle infectado apresentou altos níveis de ALT, AST, FA e redução nos níveis de ALB. NAC modulou favoravelmente os marcadores de dano hepático ao reduzir os níveis de ALT, AST, FA e aumentar os níveis de ALB. Quando associamos NAC+PZQ esses resultados são potencializados reduzindo em 39,32%, 29,75% e 33,33% os níveis de ALT, AST e FA, quando comparado ao Controle infectado, respectivamente. Ainda neste grupo, observamos aumento de 35,71% nos níveis de ALB. NAC não alterou os níveis dos marcadores em camundongos não infectados. NAC modula os marcadores de dano hepático e na associação com PZQ ocorre uma potencialização desta melhora, indicando que possa ser um adjuvante na esquistossomose experimental.

Palavras-chave: Antioxidante. Dano hepático. Esquistossomose.

SUSCEPTIBILIDADE DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE SUPERFÍCIES HOSPITALARES E HEMOCULTURAS EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA

Karoline Rissele Henrique De Almeida¹, Natally dos Santos Silva¹, Igor Vasconcelos Rocha², Danilo Elias Xavier², Sibebe Ribeiro De Oliveira¹, Nilma Cintra Leal²

¹Associação Caruaruense de Ensino Superior e Técnico (ASCES). ²Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), Fundação Oswaldo Cruz

Em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), a presença de bactérias em superfícies é comum, possibilitando a colonização e infecção de pacientes e favorecendo surtos de infecção hospitalar, sendo o isolamento de microrganismos em amostras de sangue um importante recurso diagnóstico de doenças infecciosas. O presente estudo tem como objetivo isolar e identificar bactérias de hemoculturas e superfícies próximas a pacientes em UTIs de hospitais de Caruaru-PE. Estudo transversal descritivo realizado conforme as exigências do Sistema CEP/CONEP (CAAE 43598415.0.0000.5203). A coleta de amostras sanguíneas e ambientais (grades direita, esquerda e manivela da cama, botões da bomba de infusão e prateleira de apoio) ocorreu de 2013 a 2015. Os microrganismos foram isolados por metodologia convencional e identificados por espectrometria de massas (MALDI-Biotyper®). Foram obtidos 68 isolados, sendo 31% de hemocultura e 69% ambientais. Dentre as superfícies, destacam-se as grades esquerda e direita das camas (comportando 46% dos isolados), botões da bomba de infusão e manivela da cama (20%) e prateleiras de apoio (14%). As espécies clínicas mais isoladas foram *Klebsiella pneumoniae* (43%), *Serratia marcescens* e *S. ureilytica* (24%). *K. pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii* corresponderam a 28% dos isolados ambientais cada. A maior ocorrência de Gram negativos corrobora com estudos em UTIs. A prevalência de *K. pneumoniae* é preocupante pois tal microrganismo encontra-se frequentemente associado a surtos infecciosos. A frequência significativa de *A. baumannii* pode estar associada à sua elevada versatilidade nutricional e metabólica, que permite sua sobrevivência por várias semanas em superfícies secas. A presença de bactérias semelhantes em superfícies e amostras biológicas reforça a relação entre processos de infecção e contaminação ambiental. A identificação destes microrganismos é fundamental, direcionando medidas de precaução que visem o controle de sua disseminação.

Palavras-Chave: Bacteremia. Contaminação de Equipamentos. Infecção Hospitalar. Unidades de Terapia Intensiva.

PURIFICAÇÃO PARCIAL DA L-asparaginaSE EXCRETADA POR *Pseudomonas aeruginosa* ISOLADA DA *Poencianella pyramidalis* DO BIOMA CAATINGA

Wellen Laís de Souza Gomes, Iasmim Lucas da Silva, Wellma de Oliveira Silva, Vinícius Eduardo Souza de Oliveira, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho, Leonor Alves de Oliveira da Silva.

UFPE

A enzima L-asparaginase (CE 3.5.1.1), ocorre predominantemente em micro-organismos, animais e plantas, esta é responsável por catalisar a hidrólise da L-asparagina em ácido L-aspartico e amoníaco. A L-ASNase pode ser usada na indústria alimentícia e atuar como agente anti-leucêmico e antilinfomas. Dentre os micro-organismos produtores de L-asparaginase tem-se a *Pseudomonas aeruginosa* com a capacidade de produzir enzimas, como é o caso da L-asparaginase do Tipo I ou II. No presente estudo objetivou-se purificar parcialmente a L-asparaginase excretada da *P. aeruginosa* isolada da rizosfera da *Poencianella pyramidalis*. Para o procedimento de purificação parcial da L-asparaginase extracelular a *P. aeruginosa*, inicialmente foi semeada no meio Caldo Muller Hinton (MH) e cultivada a 37 °C por 24 horas. Posteriormente inoculada no meio M-9, incubada nas mesmas condições. O líquido metabólico após centrifugação foi submetido à técnica de precipitação com sulfato de amônio em (60% v/v) logo após, dialisou-se o precipitado por 24 h a 4 °C. Por fim, o dialisado foi submetido a uma cromatografia de troca iônica tipo aniônica (DEAE Hitrap QXL), as proteínas foram eluídas com um gradiente de NaCl (0,05-0,5 M) e tampão de 50 mM de Tris-HCl (pH 8,5) e monitoradas por absorvância a 280 nm e 500 nm. As frações foram submetidas à dosagem enzimática utilizando a técnica de Nesslerização e as de melhor atividade foram reunidas, congeladas e submetidas a uma eletroforese PAGE-SDS 12%. Os resultados obtidos mostraram que das 57 frações coletadas, as de melhor atividade para L-asparaginase, foram as frações de valores 1,1412 U/mL e 1,1417 U/mL, com um rendimento de 0,64% e 18,6 U/mg de atividade específica, apresentando um peso molecular de 32 kDa. A L-asparaginase obtida sofreu um baixo rendimento utilizando a elevada precipitação com sulfato de amônio e cromatografia de troca iônica, sugerindo então, outras formas de purificação parcial para favorecer melhor rendimento enzimático.

Palavras-chave: L-asparaginase. *Pseudomonas aeruginosa*. Purificação parcial.

UTILIZAÇÃO DOS GENES *neuC* E *neuD* DO ÁCIDO SIÁLICO COMO ALVO PARA AMPLIFICAÇÃO POR PCR DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *Streptococcus*

Rafael Vinicius Soares Silva, Allyne Elins Moreira da Silva, Fernando Jun Ho Peixoto Kim,
Rinaldo Aparecido Mota
UFRPE

Streptococcus são bactérias Gram positivas, de catalase negativa podendo ser α - β hemolítico, imóveis com forma esférica e dimensões que variam de 0,2 a 1,2 μm . Podem causar doenças graves e até a morte por septicemia em humanos e animais. O ácido siálico é utilizado por diversas bactérias como fator de virulência por mimetismo de células eucariotas e dentre seus vários genes de transcrição estão o *neuC* e *neuD*. A detecção dos genes *neuC* e *neuD* pode auxiliar em estudos como mais uma opção de região alvo para uso na PCR ou sequenciamento. Neste estudo foram utilizadas cepas de referência de *Streptococcus* spp. para padronização da reação cultivadas em meio sólido ágar sangue a 5% e incubadas a 37 °C por 48 h e logo após em caldo BHI a 37 °C por 24 h para extração do DNA. Os primers (F:5'-GCTCTCGXXXTGGAAAATGC-3'; R:5'-CTGCXXXTAAAAATGCCAAC-3') foram desenhados tendo como região alvo os genes *neuC* e *neuD*. A temperatura de anelamento dos primers foi obtida através de testes com gradientes de temperatura entre 52 °C a 64 °C. A sensibilidade de concentração de DNA foi avaliada utilizando diluições entre 1×10^{-7} a 1×10^{-14} g/ μL . Os produtos amplificados foram detectados por eletroforese em gel de agarose 1,5% e os tamanhos dos amplicons determinados por comparação através de marcadores moleculares. A amplificação da sequência alvo dos genes *neuC* e *neuD* foi adequada em todas as cepas de referência de *Streptococcus* spp., não amplificando nenhuma das cepas de *Escherichia. coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pasteurella fluorescens*. Os produtos amplificados tinham aproximadamente 660 pb com temperatura de anelamento ideal em 57,2 °C, houve incremento da sensibilidade quando utilizou-se concentrações de DNA superiores a 1×10^{-9} g/ μL . O uso desses genes se mostrou uma opção à região 16S ADNr para futuras detecções de bactérias do gênero *Streptococcus* spp.

Palavras-chave: Streptococose. *Streptococcus mutans*. Meningite.

Apoio:



Sociedade Brasileira de Genética



Realização:



FIOCRUZ
PERNAMBUCO