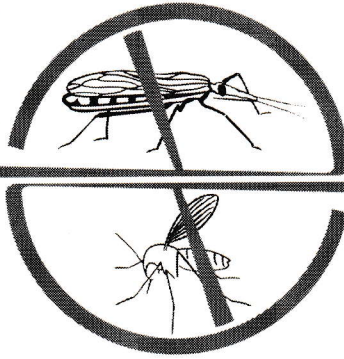


25ª Reunião de
Pesquisa Aplicada em
Doença de Chagas



13ª Reunião de
Pesquisa Aplicada em
Leishmaniose

Uberaba – 20 a 24 de outubro 2009

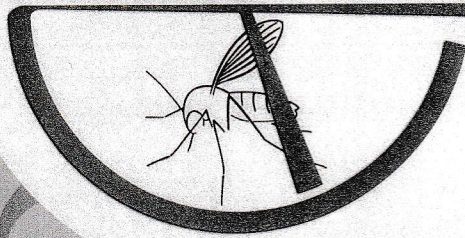
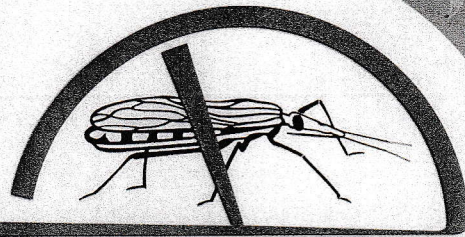
Declaro que ALEJANDRO MARCEL HASSLOCHER MORENO participou da 25ª Reunião de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas e da 13ª Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses no período de 20 a 24 de outubro de 2009, na qualidade de Participante.

Uberaba, 24 de outubro de 2009.

Dr. José Rodrigues Coura
Coordenador da Reunião

"DESAFIOS E PERSPECTIVAS DO CONTROLE E DA ATENÇÃO MÉDICA À DOENÇA DE CHAGAS E ÀS LEISHMANIOSES NAS PRIMEIRAS DÉCADAS DO SÉCULO XXI"

25ª Reunião de
Pesquisa Aplicada em
Doença de Chagas



13ª Reunião de
Pesquisa Aplicada em
Leishmaniose

UBERABA

20 a 24 de outubro de 2009

PROGRAMA E RESUMOS

Atividades:

- Cursos
- Oficinas de trabalho
- Mesas-redondas
- Conferências
- Temas Livres

Contato:

chagas100leish2009@ioc.fiocruz.br



C-EXP

DIVERSIDADE BIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE ISOLADOS DE *TRYPANOSOMA CRUZI* PROCEDENTES DE PACIENTES CRÔNICOS EM ACOMPANHAMENTO NO INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS (IPEC, FIOCRUZ)Tatiana S. Fonseca¹, Barbara N.s. Faissal², Sheila M.s. Pereira², Alejandro M.h. Moreno², Otílio M P Bastos¹, Maria A. Sousa²

(1) Universidade Federal Fluminense, (2) Fundação Oswaldo Cruz,

Introdução: A doença de Chagas é causada pelo *Trypanosoma cruzi* e afeta cerca de 20 milhões de pessoas, principalmente nas Américas do Sul e Central. Alguns autores têm proposto correlações entre as características do parasito, seu ciclo na natureza e mesmo formas da doença. **OBJETIVOS:** Caracterizar nove isolados confirmados como amostras puras de *T. cruzi* obtidos por hemocultura de pacientes chagásicos crônicos em acompanhamento no IPEC (Fiocruz). Verificar correlações entre as características biológicas e bioquímicas destes isolados e formas clínicas. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Os pacientes examinados procederam de cinco Estados brasileiros (PE, MG, BA, RS, PB), sendo que três deles apresentavam a forma cardíaca da doença e os demais sintomatologia indeterminada. Os nove isolados foram cultivados em meio monofásico (LIT) ou bifásico (NNN+LIT) e receberam números-código diferentes na Coleção de Tripanosomatídeos (CT-IOC) dependendo também de sua condição de cultivo. No presente trabalho analisaram-se a capacidade de crescimento e diferenciação para tripomastigota metacíclico (metaciclogênese) nos meios acima citados, além do padrão de mobilidade eletroforética de quatro sistemas enzimáticos (MDH-E.C.1.1.1.37; GPI-E.C.5.3.1.9; PGM-E.C.2.7.5.1; 6PGDH-E.C.1.1.1.44). Amostras de referência de *T. cruzi* foram incluídas em todas as análises. **RESULTADOS E Conclusões:** Com exceção de um isolado (CT-IOC 538), as amostras em estudo foram capazes de crescer em meio LIT, característica comum entre cepas/clones de *T. cruzi*. Todas cresceram em NNN+LIT. Em meio LIT, apenas quatro amostras completaram a metaciclogênese. Três outras só o fizeram em NNN+LIT, enquanto duas não produziram metacíclicos nas condições examinadas. Foram observados zimodemas distintos entre as amostras analisadas, sendo seis delas associadas à cepa Y (Z2), duas ao clone CL Brener (ZB) e uma ao Dm28c (Z1). Os resultados obtidos até o momento não evidenciaram associações entre as características biológicas dos isolados em estudo e seu padrão isoenzimático, mas todos os isolados obtidos de pacientes cardíacos pertencem ao zimodema 2 (Z2). Outras análises estão em andamento, incluindo a identificação destas amostras de pacientes chagásicos com grupos principais já descritos para *T. cruzi*. (Projeto aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa da FIOCRUZ, # 0050.0.009.000-05).

C-EXP

ANÁLISE DE MARCADORES PARA O DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE AMOSTRAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI* E *TRYPANOSOMA RANGELI* MANTIDAS EM CULTURAS AXÊNICASBarbara N.s. Faissal¹, Tatiana S. Fonseca², Sheila M.s. Pareira¹, Otílio M P Bastos², Maria A Sousa¹

(1) Fundação Oswaldo Cruz, (2) Universidade Federal Fluminense,

Introdução: *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, e *T. rangeli*, espécie não patogênica para seres humanos, podem compartilhar hospedeiros vertebrados e invertebrados em diversos países da América Latina. Além disto, estas espécies podem ser isoladas em culturas axênicas, inclusive em misturas naturais. Assim sendo, seu diagnóstico diferencial é relevante sob o ponto de vista clínico, epidemiológico e na rotina de laboratórios de pesquisa. **OBJETIVOS:** Apurar o valor de diferentes técnicas de estudo para a caracterização de *T. cruzi* e *T. rangeli*, identificando caracteres úteis para a distinção destas espécies e/ou suas variedades. Confirmar a autenticidade de amostras da Coleção de Tripanosomatídeos (CT-IOC). Resgatar a importância de conhecimentos parasitológicos básicos sobre estas espécies. **Materiais E Métodos:** Dez amostras de referência de *T. cruzi* e 6 de *T. rangeli* foram estudadas por técnicas parasitológicas (crescimento em cultura, morfologia e biometria), pelo perfil eletroforético de isoenzimas ((MDH-E.C.1.1.1.37; ME-E.C.1.1.1.40; GPI-E.C.5.3.1.9; PGM-E.C.2.7.5.1) e dos produtos de amplificação por PCR de fragmentos de minicírculos do kDNA. Para os estudos parasitológicos, as amostras foram cultivadas a 27.3C (±0,3) em meio LIT com 10 ou 20% de soro fetal bovino (SFB) e para as análises bioquímicas e moleculares em N.N.N.+LIT (10% ou 20% SFB). **Resultados e Conclusões:** As dez amostras de *T. cruzi* puderam ser cultivadas em LIT com 10% SFB, enquanto todas as de *T. rangeli* só cresceram em LIT com 20% SFB. Estas também apresentaram um padrão de diferenciação mais complexo que *T. cruzi*, incluindo esferomastigotas e outras formas peculiares (*tadpole-like*). *Trypanosoma cruzi* e *T. rangeli* apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,000$) nas dimensões dos tripomastigotas (comprimento total, incluindo o flagelo) e dos cinetoplastos dos epimastigotas. As quatro isoenzimas analisadas possibilitaram a distinção destas espécies, mas os sistemas GPI e PGM evidenciaram melhor suas variedades. Os primers #121/122 amplificaram produtos típicos de *T. cruzi* (330pb) e de *T. rangeli* (760pb) para todas as amostras identificadas com estas espécies. Sob condições eletroforéticas diferenciadas, estes mesmos primers evidenciaram que a banda inferior de todas as cepas de *T. rangeli* analisadas (KP1+) tem cerca de 350pb, assim distinguindo-se de *T. cruzi*. Os resultados deste trabalho evidenciaram que apenas alguns caracteres morfobiológicos a análise de quatro loci enzimáticos são suficientes para a distinção entre *T. cruzi* e *T. rangeli*. Também evidenciou-se o potencial dos primers #121/122 para identificar estas espécies, tanto isoladas quanto em misturas.

C-EXP

ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE CITOCINAS E PARASITISMO CARDÍACO EM CAMUNDONGOS C57BL/6 iNOS^{-/-} REINFECTADOS COM DIFERENTES CEPAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI*Marcos V. Silva¹, Lúcio R. Castellano¹, Juliana R. Machado¹, Javier E.I. Chica¹, Denise B.r. Rodrigues¹, Virmondes R. Júnior¹

(1) Universidade Federal Do Triângulo Mineiro

Introdução: Habitantes de áreas de transmissão ativa da doença de Chagas podem sofrer infecções repetidas com diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*. Pouco se conhece sobre o perfil de resposta imunológica induzido por reinfecções em doenças infecto-parasitárias. Modelos animais deficientes de moléculas imunológicas específicas auxiliam na compreensão da imunidade no curso da infecção. **Objetivo:** Relacionar a reinfecção por cepas distintas de *T. cruzi* com a produção de citocinas e o parasitismo cardíaco em animais C57BL/6 iNOS^{-/-}. **Material e Métodos:** Foram infectados 24 camundongos C57BL/6 iNOS^{-/-} com 3000 formas tripomastigotas de *T. cruzi*, sendo 12 com a cepa Y e 12 com a cepa Colombiana. Após 90 dias 4 animais de cada grupo foram reinfectados com a cepa Y, 4 com a cepa Colombiana e 4 foram utilizados como controle. Após 21 dias da segunda infecção, os animais foram eutanasiados. As células do baço foram cultivadas por 24 e 72h em presença de antígeno de *T. cruzi* e o sobrenadante colhido para dosagem de citocinas por ELISA. Os corações foram retirados para detecção de ninhos de *T. cruzi* por imunohistoquímica. **Resultados e Conclusão:** A reinfecção com a cepa Colombiana promoveu aumento na produção de IFN- γ ($p=0,029$) e IL-10 ($p=0,029$) nos animais cronicamente infectados com a cepa Y de *T. cruzi*. Por outro lado, nos animais cronicamente infectados com a cepa Colombiana houve aumento na produção de IFN-