IV Jornada da Pós-graduação em Biologia Parasitária e Microbiologia

Biologia Parasitária

Autor: Fabiana Dantas de SouzaBP-Esp-001

Título: OCORRÊNCIA DE ENTEROPARASITOS EM AMOSTRAS DE FEZES DE CRIANÇAS MENORES DE SEIS ANOS EM COMUNIDADE CARENTE DA ZONA

NORTE DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.

Orientadora: Patrícia de Oliveira CameraÁrea de Concentração: Parasitologia

No Brasil, as enteroparasitoses constituem um problema de saúde pública que frequentemente estão associadas às condições sócio-econômicas, como a pobreza, a baixa condição higiênica da população e principalmente a falta e/ou deficiência de saneamento básico que atingem ainda, grande parte do nosso País. Segundo a OMS, no mundo, um em cada quatro habitantes apresenta um tipo de parasitose. Estas enteroparasitoses podem ser causadas tanto por helmintos como por protozoários, que vão ter o homem como seu hospedeiro em pelo menos uma parte do seu ciclo de vida, e dependendo do parasito e da carga parasitária, podem provocar diversas alterações patológicas com quadros clínicos dos mais variados. No Brasil, encontramos trabalhos que apontam a presença de indivíduos infectados por enteroparasitos em diferentes regiões. Propomos com este trabalho verificar a ocorrência dos enteroparasitos em crianças menores de seis anos cadastrados e acompanhadas pela Unidade de Saúde da Família (USF) do Morro do Fubá, Cascadura, do Estado do Rio de Janeiro. Esta USF está associada à Escola de Medicina da FTESM, o que corroborou com o desenvolvimento deste projeto. Este projeto foi apresentado e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Prefeitura do Rio de Janeiro (Protocolo nº 237626) e do Hospital Mario Kroeff (Protocolo nº 064). Foram coletadas 57 amostras de fezes de pacientes, sendo todas analisadas no Laboratório Multifuncional da Escola de Medicina Souza Marques. Para a análise da presença de ovos de helmintos e cistos de protozoários foram utilizados os métodos de Lutz e Ritchie, e para detecção de oocistos de Cryptosporidium foram empregadas as técnicas de coloração de Kinyoun e Safranina. Ovos de helmintos foram detectados em 29,8% (17/57) dos casos e 86% (49/57) foram positivos para cistos de protozoários, onde 31,6% (18/57) foram positivos para mais de um patógeno. A análise para detecção de oocistos de Cryptosporidium sp foi negativa para todas as amostras. Os resultados encontrados demonstram uma elevada contaminação do ambiente estudado, resultando alto índice de infecção por geohelmintos e protozoários na população estudada, sugerindo a necessidade de um trabalho junto à população para conscientização e melhoria nos hábitos de higiene e descarte de matéria fecal.

Palavras Chaves: *Cryptosporidium* sp; ovos de helmintos e cistos de protozoários; crianças; contaminação do solo, água e alimentos.

Autor: Suzane Herculano BorgesBP-Esp-002

Título: ESTUDO IN VITRO DO COMPORTAMENTO DE LEISHMANIA (L.)

AMAZONENSIS COM FIBROBLASTOS HUMANO E MURINO.

Orientadora: Flavia de Oliveira Cardoso **Área de Concentração:** Protozoologia

Parasitos do gênero *Leishmania* são protozoários intracelulares obrigatórios do sistema fagocítico mononuclear que podem causar diversas formas clínicas de leishmaniase, incluindo

forma cutânea, cutânea difusa, mucocutânea e visceral. Apesar de terem como células hospedeiras os macrófagos, em muitos trabalhos vem sendo demonstrado que esses parasitos são capazes de infectar fobroblastos tanto in vitro como in vivo. Portanto, esse trabalho tem como objetivo geral comparar o comportamento in vitro de Leishmania (L.) amazonensis com fibroblastos humano e murino. Material e Métodos: O protocolo experimental será constituído de quatro grupos: G1 - Fibroblastos dérmicos humanos não infectados; G2 -Fibroblastos dérmicos humanos infectados com formas promastigotas de L. (L.) amazonensis; G3 - Fibroblastos murinos não infectados; G4 - Fibroblastos murinos infectados com formas promastigotas de L. (L.) amazonensis. As células serão plaqueadas em uma densidade de 1X 106 células/poço em placas de 24 poços com fundo chato contendo lamínulas redondas. Após 24 horas do plaqueamento, as células do grupo G2 e G4 serão infectadas com promastigotas viáveis de L. (L.) amazonensis (1x107 células/poço), enquanto as células dos grupos G1 e G3 não serão infectadas (controle negativo). As placas serão mantidas em estufa com atmosfera úmida a 37°C e 5% de CO2. Após 30, 60 minutos, 6, 24, 48 e 72 horas de cultivo, as lamínulas serão fixadas com paraformaldeído (PFA) a 4% diluído em PBS pH 7.45 a 4°C por 5 minutos.

Autores: Everton Santos BP-Esp-003

Título: RESPOSTA COMPORTAMENTAL DE *POECILIA VIVIPARA* (OSTEICHTHYES) PARASITADO POR *ACANTHOCOLLARITREMA UMBILICATUM*

(TREMATODA)

Orientadora: Claudia P. Santos Área de Concentração: Helmintologia

O comportamento de um animal é um elo entre os processos fisiológicos e ecológicos. Substâncias tóxicas, por exemplo, podem alterar o comportamento de um organismo, conduzindo-os ao estresse. No entanto, os trabalhos ecotoxicológicos não levam em conta o parasitismo, conhecido por causar alterações fisiológicas que refletem no comportamento dos seus hospedeiros. O trabalho tem como objetivo estudar o comportamento locomotor de Poecilia vivipara através do uso de um sistema de biomonitoramento por análise de imagem (SBAI). Os objetivos específicos incluem: (i) avaliar através de um SBAI o comportamento de peixes não parasitados; (ii) avaliar através de um SBAI o comportamento de peixes infectados com Acanthocollaritrema umbilicatum; (iii) Comparar o comportamento de peixes não parasitados e parasitados com diferentes cargas parasitárias. Utilizamos 60 peixes nascidos e criados em laboratório. Trinta peixes foram monitorados antes e após exposição a 30 cercárias e os outros trinta peixes foram monitorados antes e após exposição a 50 cercárias de A. umbilicatum. Os peixes foram posteriormente divididos em grupos, segundo sua carga parasitária. Os dados referentes ao comportamento foram analisados estatisticamente pelo teste de Wilcoxon. Após necropsia, foram encontradas metacercárias entre as escamas, nadadeiras e musculatura em todos os peixes experimentalmente infectados. Os peixes que apresentaram carga parasitária baixa (2-10 metacercárias) não obtiveram diferenças entre os momentos antes e depois. Os peixes que apresentaram cargas parasitárias moderadas (11-22 metacercárias) aumentaram sua atividade locomotora enquanto que os peixes que apresentaram cargas parasitárias relativamente altas (23-36 metacercárias) diminuíram significativamente sua atividade locomotora.

Autores: José Márcio Rocha Venâncio BP-Esp-004

Título: IDENTIFICAÇÃO DE PARASITOS, INSETOS VETORES E ARTRÓPODES TRANSMISSORES DE DOENÇAS DOS SERVIDORES QUE TRABALHAM COM A POPULAÇÃO CARCERÁRIA E DETENTOS DAS DELEGACIAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.

Orientador: Margareth Queiroz **Área de Concentração:** Entomologia

O servidor que trabalha com a população Carcerária, e o próprio detento está suscetível a uma gama variada de Parasitos, que no caso do servidor diminui sua resistência imunológica, contribuindo para sua ausência no trabalho. No caso dos detentos, esse problema acarreta um aumento significativo de encaminhamento ao hospital, podendo ocasionar um maior risco de fuga e também um gasto significativo para sua locomoção. Está provado que parasitos intestinais diminuem consideravelmente as células do sistema imunológico, aumentando a virulência de doenças virais, tais como a AIDS e Herpes Simples, entre outras. A falta de higiene nas celas aumenta o nº de transmissores de patógenos (Principalmente moscas). Avaliar a contaminação por Parasitos Intestinais na população carcerária e nos servidores, bem como o risco de Doenças Transmitidas Por Insetos Vetores (Principalmente o Aedes aegypti) e Artrópodes Transmissores De Doenças (Moscas, Piolhos, Chatos, Sarnas etc.). Será utilizada uma amostragem intencional de servidores e detentos de delegacias do Município do Rio de Janeiro. As amostras serão colhidas (com a permissão dos servidores e dos detentos), e encaminhadas ao Laboratório da Polícia Civil José da Costa Moreira. Serão realizadas as técnicas de exame de fezes Direto (Hoffman) e Solução Saturada de Cloreto de Sódio (Willis). Serão feitos também, exames para diagnosticar Ectoparasitas. As instalações também serão avaliadas, a Fim de diminuir o acesso dos Parasitos e seus respectivos contágios. Aulas de Higiene, Saúde e D.S.T's serão ministradas para educar, na tentativa de diminuir as transmissões dos Patógenos.

Autores: Paula Adriana Silvério ChavesBP-Esp-005

Título: REVALÊNCIA DE PARASITOSES INTESTINAIS EM CRIANÇAS DE IDADE

PRÉ - ESCOLAR EM UMA ESCOLA MUNICIPAL DO RIO DE JANEIRO

Orientador: Maira Cavalcanti de Albuquerque **Área de Concentração:** Parasitologia

As parasitoses intestinais representam um grave problema de saúde pública em crianças de idade escolar. Nessa população as enteroparasitoses ocasionam diarréias crônicas, anemia, agravamento da subnutrição, afetando o desenvolvimento físico e a diminuição do rendimento escolar, principalmente nas faixas etárias mais jovens. No Brasil, esse problema se agrava devido à falta de saneamento básico associada a medidas de higiene pessoais e domésticas deficientes. Diversos trabalhos relatam a presença de parasitoses intestinais em crianças em idade escolar. Tal fato ressalta a importância do ambiente escolar para o estudo e para o desenvolvimento de programas de prevenção com o intuito de reduzir esses números. O objetivo deste estudo será avaliar a prevalência das parasitoses intestinais através da análise do exame parasitológico de fezes de alunos de uma escola Municipal do Rio de Janeiro-Zona Oeste -, na faixa etária de 4 a 6 anos. Além disso, realizar palestras informativas para os responsáveis e comunidade escolar sobre a importância do Exame Parasitológico de fezes e

das formas de prevenção das enteroparasitoses mais comuns. Serão analisadas cerca de 75 amostras de fezes dos alunos. As amostras serão processadas pelo método de Ritchie modificado por Young. Serão ministradas 2 (duas) palestras informativas aos pais responsáveis e funcionários da escola antes e depois da realização dos exames de fezes.

Autores: Karine Gomes LeiteBP-Esp-006

Título: AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO E ESCLARECIMENTO DE PROFISSIONAIS E ALUNOS DE UNIDADES DE ENSINO FUNDAMENTAL DO RIO DE JANEIRO, COM RELAÇÃO AS ENTEROPARASITOSES.

Orientador: Maria Regina Reis Amendoeira **Área de Concentração:** Parasitologia

O presente trabalho tem como objetivo fazer uma análise e avaliar o conhecimento sobre enteroparasitoses, da população de alunos de três unidades de ensino fundamental do Rio de Janeiro. Destacando o grau de conhecimento destes; comparando o conhecimento das redes de ensino, distribuídas em duas privadas e uma pública e promovendo o esclarecimento sobre os mais comuns tipos de enteroparasitoses que afetam a população, proporcionando aos alunos maior entendimento sobre as doenças parasitológicas, visualizando assim inserir conhecimento sobre as parasitoses e promover o esclarecimento dos métodos preventivos e de saneamento básico, para que se evite a incidência destas doenças nas populações alvo. As escolas estão localizadas no Estado do Rio de Janeiro, as escolas particulares pertencem ao município do Rio, bairro da Pavuna, e a escola pública do município de São João de Meriti – Centro, sendo estas pertencentes a bairros vizinhos. As enteroparasitoses são um problema de saúde pública grave, uma vez que lamentavelmente há falta de uma política de educação sanitária eficaz que atinja todos os níveis sociais da população. A erradicação desses parasitas requer melhorias das condições sócio-econômicas, no saneamento básico e na educação sanitária, além de mudanças de certos hábitos culturais O trabalho foi realizado visando promover uma melhora no conhecimento dos alunos de ensino fundamental sobre as enteroparasitoses que afligem e acometem a população do Rio de Janeiro. Para a elaboração desta pesquisa formularemos questionários objetivos sobre contágio, causadores das mais comuns doenças parasitológicas e métodos preventivos, que passarão pelo comitê de ética, e assinatura de consentimentos das escolas e alunos envolvidos, logo após, serão distribuídos aos alunos de 6º ao 9º ano do ensino fundamental das escolas privadas e pública, antes e após palestras ministradas pela equipe, para perceber a absorção de conhecimento dos alunos pré e pós palestras, Com estes dados montaremos gráficos que mostrem a eficácia das palestras nas redes de ensino. Assim pode-se concluir que é de suma importância, avaliar e incentivar o ensino sobre enteroparasitoses nas escolas.

Microbiologia

Autores: Fabia Diniz de Aguiar MICRO-Esp-001

Título: FATORES DE VIRULÊNCIA E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA INTRÍNSECOS E ADQUIRIDOS PELA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*: UMA REVISÃO DA LI-

TERATURA

Orientador: Adriana Sá São José Área de Concentração: Bacteriologia

A Pseudomonas aeruginosa é um patógeno humano, oportunista relacionado à mortalidade de pacientes com fibrose cística, imunocomprometidos, vítimas de queimaduras, infecções urinárias associadas ao uso de cateteres e infecções nosocomiais severas, especialmente em pacientes internados em Unidades de Tratamento Intensivo. O mecanismo de multi-resistência bacteriana é muito debatido atualmente, e entre os gram-negativos, é a que demonstra maior facilidade de desenvolvimento de re-sistência aos antibióticos, pela sua suscetibilidade natural a um número limitado de antimicrobianos e pelas elevadas taxas de resistência adquirida a várias drogas. O surgimento dessa resistência é inevitável devido à conservação e à perpetuação da espécie, mas o controle na utilização dos diferentes antibióticos pode limitar o aparecimento de cepas multi-resistentes. O combate a esse micro-organismo em hospitais pode ser realizado através do conhecimento da microbiota local, e da valorização pelas Comissões de Controle de Infecção Hospitalar. É importante conhecer os diversos mecanismos de resistência intrínsecos e adquiridos expressos pela bactéria, além do monitoramento de cepas circulantes, que podem ser hospitalares ou isoladas na comunidade. Neste último caso, o uso incorreto ou em excesso, de antibióticos, pode alertar para ações necessárias à prevenção da sua disseminação. Pelo exposto, este trabalho tem o propósito de revisar na literatura os fatores de virulência e os diferentes mecanismos de resistência expressos pela P. aeruginosa, o que está relacionado ao padrão particular de suscetibilidade in vivo/ in vitro durante tratamento. Com isso, busca-se contribuir para que o diagnóstico laboratorial das infecções causadas por este patógeno seja correto, assim como a seleção do antibiótico seja eficaz para a resistência expressa e identificada por essa bactéria.

Autores: Vanessa Vólaro Caminha Mota MICRO-Esp-002

Título: BACTERIÓFAGO: DA DESCOBERTA ÀS APLICACÕES PRÁTICAS

Orientador: Maira Paula de Sousa **Área de Concentração:** Virologia

Um bacteriófago (também chamado fago) é um pequeno vírus que infecta apenas bactérias. Da mesma forma, que vírus infectam eucariontes, os fagos consistem numa proteína exterior protetora e no material genético dentro de uma cápsula. Os fagos foram descobertos independentemente por Frederick Twort em 1915 e por Félix D'Herelle em 1917. A natureza do bacteriófago foi muito discutida no passado: vírus, enzima, gene, etc., porém hoje está perfeitamente esclarecido que se trata de um vírus bacteriano. Recentemente, microbiologistas visionários têm revisto os resultados desanimadores, obtidos pelos primeiros investigadores, que utilizaram fagos. Estes insucessos históricos têm repercutido como uma promessa para o futuro. Além do grande interesse teórico que oferece o estudo dos bacteriófagos em conexão com a natureza dos

vírus, seu modo de replicação e as modificações que ocorrem em consequência da infecção pelos fagos virulentos, devem ser também mencionados alguns aspectos de interesse prático, como a fagoterapia e o fagodiagnóstico. Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica utilizando alguns textos, livros e artigos, promovendo uma discussão desde em que foi descrita a presença de bacteriófagos até sua utilização em terapias, diagnósticos e indústrias.

Autores: Thaís Mattos Marins das Neves MICRO-Esp-003

Título: MECANISMOS DE INFECÇÃO PELO INFLUENZA VÍRUS A (H1N1)

Orientadora: Clayton Bernardinelli Gitti **Área de Concentração:** Virologia

O presente trabalho terá como objetivos explicar o modo de infecção do vírus da gripe A (Influenza H1N1), assim como sua evolução, caracterizando o processo inicial da doença. Os ortomixovírus são vírus envelopados e possuem um genoma de RNA segmentado, de polaridade negativa, o que lhe permite grande capacidade de mutação. São vírus respiratórios que causam sintomas respiratórios e sintomas clássicos de gripe, como febre, mal-estar, dor de cabeça e dores no corpo. A replicação do vírus começa com a ligação da glicoproteína hemaglutinina viral através do ácido siálico nas glicoproteínas da superfície celular, ocorre uma endocitose e dentro da célula o vírus é desencapsidado liberando seu nucleocapsídeo em direção ao núcleo onde é transcrito em ácido ribonucléico mensageiro (RNAm). O diagnóstico clínico basei-se nos sintomas característicos da gripe, na estação e em sua presença na comunidade e o diagnóstico laboratorial é feito com a identificação do vírus em células destruídas e serve para confirmação. A doença tem como prevenção medidas profiláticas como higiene pessoal e a vacinação e seu tratamento se dá através do uso de antivirais.

Autores: Jorge Clair Oliveira dos SantosMICRO-Esp-004

Título: *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUTORA DE â-LACTAMASES DE ESPECTRO AMPLIADO (ESBL) ENVOLVIDAS EM INFECÇÃO HOSPITALAR: MÉTODOS DE DETECÇÃO, TRATAMENTO E PREVENÇÃO

Orientadora: Liliane Miyuki Seki **Área de Concentração:** Bacteriologia

A Klebsiella pneumoniae é um bacilo Gram-negativo da família Enterobacteriaceae, mais frequentemente isolados como causa de pneumonias, infecções do trato urinário, bacteremias e sepse. Um dos temas de grande relevância clínica compreende a resistência da K. pneumoniae aos antimicrobianos devido a produção de â-lactamases de espectro ampliado (ESBLs). Essas enzimas são capazes de hidrolisar cefalosporinas de amplo espectro, monobactâmicos e penicilinas de amplo espectro, limitando as opções terapêuticas disponíveis. Portanto, o uso indiscriminado de cefalosporinas de amplo espectro é um dos fatores de risco, que tem contribuído mundialmente, para a emergência de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos, sendo considerada atualmente como um dos maiores problemas de Saúde Pública, aumentando a morbidade, mortalidade e o custo associado às infecções hospitalares. Assim, a implantação de técnicas adequadas para o rápido reconhecimento de amostras produtoras destas enzimas, no ambiente hospitalar, é importante para a seleção do agente antimicrobiano adequado para o tratamento da infecção. Além disso, os genes que codificam

estas enzimas fazem parte de elementos genéticos móveis como, integrons, transposons e plasmídios que podem ser disseminados horizontalmente entre diferentes amostras, o que representam um risco epidemiológico. O presente trabalho tem sua metodologia baseada em pesquisas bibliográficas, atualizadas, e como objetivos descrever os métodos utilizados para a detecção destas enzimas, bem como, os principais mecanismos e a disseminação de resistência, envolvidos deste patógeno no ambiente hospitalar, além das opções terapêuticas e medidas de prevenção adequadas. Permitindo então, reunir importantes informações que auxiliem no controle e redução do surgimento de *K. pneumoniae* produtoras de â-lactamases de espectro ampliado, visando a melhoria na qualidade da assistência hospitalar.

Palavras-chaves: K. pneumoniae, ESBL, Infecção hospitalar, Resistência antimicrobiana.

Autores: Roberta Laine de Souza MICRO-Esp-005

Título: Ocorrência de *Vibrio* sp. e *Aeromonas* sp. em animais marinhos e sua relevância em

saúde humana e animal

Orientadora: Dalia dos Prazeres Rodrigues **Área de Concentração:** Bacteriologia

Os mamíferos marinhos, entre estes, os cetáceos (golfinhos e baleias), encontram-se no topo da cadeia alimentar e por isso tendem a acumular grandes concentrações de poluentes nos seus organismos, através dos processos de bioacumulação e biomagnificação. Sendo assim, podem representar indicadores-chave da qualidade de saúde dos ambientes em que se encontram. Da mesma forma, o ecossistema marinho é reconhecido como um habitat natural de alguns micro-organismos patogênicos destacando-se os membros das famílias Vibrionaceae e Aeromonadaceae. Algumas espécies pertencentes a estes gêneros bacterianos são consideradas oportunistas e, em hospedeiros saudáveis, fazem parte da microbiota normal; porém em condições de stress, podem determinar manifestações sistêmicas ou localizadas particularmente na pele e nadadeiras de mamíferos marinhos, bem como põem em risco, pessoas que manuseiam estes animais. Além dessas manifestações, são relevantes em Saúde Pública pelo envolvimento em doenças de transmissão alimentar e infecções extra-intestinais. Entretanto, os agentes causais das doenças e os riscos que determinam à saúde animal e humana são difíceis de determinar especialmente, devido aos hábitos migratórios dessas espécies. Diante de tais circunstâncias, reveste-se de importância, estudos que avaliem a ocorrência e distribuição de enteropatógenos potencialmente patogênicos, pertencentes às famílias Vibrionaceae e Aeromonadaceae em cetáceos, em face de suas implicações em doenças nesses animais e em seres humanos. Os espécimes analisados constituir-se-ão de swabs de lesões superficiais cutâneas e outros sítios (boca, fenda genital, ânus) obtidos de mamíferos marinhos encalhados ou capturados acidentalmente por redes de pesca, na costa litorânea brasileira. Os swabs obtidos de cada espécime serão inoculados em 10 mL de solução salina de Butterfield e após homogeneização, serão transferidas alíquotas de 1 mL para enriquecimento em Água Peptonada Alcalina (APA) - 1% de NaCle 3% de NaCl. Em sequência, isolamento em Agar GSP e Agar TCBS. Colônias sugestivas serão inoculadas nos meios de triagem Agar Kligler (KIA) e Agar Lisina Ferro (LIA) para identificação bioquímica presuntiva e em Agar Nutriente (1% de NaCl) para a produção de citocromo-oxidase, seguida de caracterização bioquímica complementar. Os resultados obtidos serão inseridos em banco de dados utilizando o programa EXCEL de modo a permitir a elaboração de planilhas, gráficos e tabelas.

Autores: Amanda de Meireles Nunes MICRO-Esp-006**Título:** POLIOVÍRUS DERIVA-DO DA VACINA DE VÍRUS ATENUADO SABIN**Orientador:** Eliane Veiga da Costa**Área de Concentração: Virologia**

O poliovírus, agente etiológico da poliomielite, pertence ao gênero Enterovírus da família Picornaviridae. A transmissão ocorre principalmente por contato fecal-oral, por meio de água e alimentos contaminados e também pela via oral-oral, afetando o sistema nervoso central. A poliomielite (paralisia infantil) é uma doença infecciosa de caráter agudo em decorrência de uma infecção causada por qualquer um dos três sorotipos de poliovírus, denominados poliovírus sorotipos 1, 2 e 3. Em 1994 a região das Américas recebeu o certificado de erradicação da circulação do poliovírus selvagem, porém esta doença continua de forma endêmica em quatro países: Afeganistão, Paquistão, Índia e Nigéria. A imunização através da vacina oral com vírus atenuado (Sabin) é a prevenção indicada de acordo com os programas de erradicação da poliomielite da OMS (Organização Mundial da Saúde). A problemática associada à vacina de vírus atenuado está no fato dos vírus serem passíveis de sofrerem mutações. Algumas cepas excretadas por indivíduos vacinados podem sofrer mutações originando subpopulações virais com virulência alterada. Esse fato pode levar os indivíduos vacinados e seus contatos próximos a desenvolverem a poliomielite paralítica associada à administração da vacina e ao aparecimento de um vírus derivado com características biológicas semelhantes à cepa selvagem. Diante de tais circunstâncias, revela-se a importância de uma atualização dos estudos dos impactos dos poliovírus derivados da vacina (PVDV) na etapa final de erradicação da poliomielite no mundo. Após o primeiro surto de PVDV no mundo em 2000 (ano anteriormente estabelecido para o cumprimento da meta de erradicação da doença), várias ações de ordem política e técnicas, têm sido realizadas pela OMS para que o processo final de erradicação da poliomielite não seja alterado.

Autores: Cintia Vieira MarinhoMICRO-Esp-007

Título: AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ÁGUAS DE BEBEDOUROS E FILTROS OZONIZADORES DE UMA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA DO RIO DE JANEIRO

Orientador: Antonio Nascimento Duarte **Área de Concentração:** Microbiologia

A água é uma substância essencial à vida de todos os seres vivos, pois fornece equilíbrio para as reações do metabolismo celular e fisiológico dos seres vivos, no entanto ela é o principal veículo de transmissão de doenças. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e a potabilidade da água destinada ao consumo humano de bebedouros e filtros ozonizadores de uma indústria farmacêutica do Rio de Janeiro, e propor melhorias para a utilização mais eficaz dos equipamentos citados. Foram analisadas 56 amostras de água de bebedouros e filtros ozonizadores localizados em diversos pontos da indústria, no período de janeiro a junho de 2010. A técnica utilizada para análise foi por filtração em membrana de nitrocelulose 0,45mm para contagem de aeróbios totais e pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*, o meio de cultura utilizado foi Ágar Casoy e Ágar Cetrimide respectivamente. A pesquisa de Coliformes Totais e/ou Fecais (coliformes termotolerantes) foi realizada em 10mL de Caldo MacConkey (C.MAC) contendo um tubo de Durhan invertido. As placas foram incubadas por 72h a 35± 2°C e o caldo por 24h na mesma temperatura. Embora parciais, os resultados

permitem verificar que apenas três bebedouros atenderam à legislação vigente e que sete bebedouros/filtros ozonizadores apresentam valores >500UFC/mL e dentre esses se observou que a contaminação foi em grande frequência por *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* e *Enterobacter sp*, revelando sob o ponto de vista bacteriológico que as águas estavam impróprias para consumo humano. Os resultados parciais observados revelaram que apesar de não ter sido diagnosticados coliformes fecais e totais, é necessário que haja um monitoramento constante da qualidade das águas, sugerindo-se a intensificação da higienização dos reservatórios e dos próprios bebedouros e filtros para que os mesmos tenham um padrão adequado de funcionamento proporcionando índices microbiológicos de potabilidade da água aceitáveis, uma vez que muitas pessoas bebem essas águas.

Palavras-chave: Coliformes totais, coliformes fecais, água potável, qualidade microbiológica; análise microbiológica da água.

Autores: Fernanda Duarte AmaroMICRO-Esp-008

Título: MONITORAMENTO AMBIENTAL DE PARTÍCULAS VIÁVEIS NA LINHA

DE PRODUÇÃO DE PRODUTOS ORAIS NÃO ESTÉREIS

Orientador: Jonas Borges da Silva **Área de Concentração:** Bacteriologia

Todo ar é microbiologicamente contaminado, surgindo a preocupação de se manter níveis mínimos de contaminação ambiental em setores de produção de medicamentos. O objetivo principal deste trabalho consistiu em definir os Limites de Alerta e de Ação do número de partículas viáveis do Monitoramento Ambiental, da linha de produção de uma indústria farmacêutica de produtos orais não estéreis, situada no Município do Rio de Janeiro, após a obra de ampliação da empresa. Como objetivo secundário, propôs-se realizar uma identificação morfotintorial das colônias encontradas e correlacioná-las a limpeza das áreas, superfícies e/ou manipuladores. O estudo foi realizado no período de Junho/2009 a Maio/2010, seguindo as Boas Práticas de Fabricação, utilizando o método passivo de amostragem, através da exposição por uma hora da placa de Petri 90x15cm com Ágar Casoy (TSA) para contagem de bactérias aeróbias e outra com Ágar Sabouraud 4% (SDA) acrescido de Cloranfenicol Levógiro a 0,8% para contagem de fungos e leveduras. As placas de TSA foram incubadas em estufas a 35° ± 2°C por 48h a 72h e as de SDA a 23°C ± 2°C por 7 dias. Após o período de incubação, realizou-se o registro da morfologia colonial e a seguir a coloração de Gram e teste de catalase. Os resultados preliminares indicaram que mais de 60% das colônias caracterizaram-se como CGP, e catalases positivas. Já os 40% restantes ficaram distribuídos em CGN, BGP e BGN, e raramente catalases negativas. Os resultados indicaram um elevado índice de CGP, sugerindo que a principal fonte de contaminação são as pessoas. Isso enfatiza a importância da lavagem das mãos para a manutenção dos níveis de concentração e tipos microbianos.

Palavras-chave: Monitoramento ambiental; Partículas viáveis; Exposição de placas; Grau D.

Autores: Luana Matheus da Silva FerreiraMICRO-Esp-009

Título: A INCIDÊNCIA DE CANDIDA ALBICANS EM VULVOVAGINITES

Orientador: Luiz Henrique dos Santos **Área de Concentração:** Micologia

O gênero Candida é constituído de aproximadamente 200 diferentes espécies de leveduras, que fazem parte da microbiota normal do homem, sendo encontrados como sapróbias na boca, áreas flexurais, orofaringe, intestino e vagina. Entre as espécies que compõem esse gênero, a C. albicans apresenta maior relevância em função de sua taxa de prevalência em condições de normalidade e de doença, sendo amplamente distribuída na natureza. Contudo, espécies não-albicans como C. tropicalis, C. glabrata, C. krusei, C. parapsilosis, C. kefyr, C. lusitaniae, C. inconspicua, C. rugosa, C. dubliniensis e C. guilliermondii têm sido cada vez mais isoladas de casos de doença humana. As leveduras do gênero Candida, em particular a C. albicans, são patógenos oportunistas e a maioria das infecções tem origem endógena, embora seja encontrada também em superfícies e objetos, tanto na comunidade como em ambientes hospitalares. As candidíases são um conjunto de infecções que podem ser classificadas em cutâneo-mucosas e invasivas (hematogênicas). A Vulvovaginite é a Candidíase não hematogênica causada por um distúrbio ocasionado pelo crescimento anormal de fungos leveduriformes na mucosa do trato genital feminino. Alguns fatores que favorecem o desenvolvimento desse tipo de infecção são gestação, diabetes, antibioticoterapia prolongada e uso de contraceptivos orais. Além disso, mulheres com infecção pelo HIV apresentam maior número de episódios de Candidíase Vaginal, com quadro clínico mais grave. Clinicamente o prurido vulvar é o aspecto mais aparente seguido de ardor ao urinar, dispareunia e eliminação de um corrimento vaginal em grumos, semelhante à nata de leite. Com freqüência, a vulva e a vagina encontramse com queimação, irritação e sensibilidade. O diagnóstico de infecções por Candida é confirmado, analisando uma amostra da secreção. Neste estudo vamos analisar cinquenta amostras de fluídos vaginais fornecidas pelo Consultório do Dr. Sérgio Roberto, verificando a incidência de C. albicans. Os agentes etiológicos serão identificados através do Sistema de Cultivo em Placa Cromogênica CHROMagar Candida, e de acordo com estes, teremos formações de colônias com diferentes colorações, podendo assim, identificar os principais agentes etiológicos leveduriformes e confirmar a incidência da C. albicans.

Palavras-Chave: Vulvovaginite; Candida albicans.

Autores: Alexandre Teixeira da RochaMICRO-Esp-010

Título: FORMIGAS COMO VETORAS DE PATÓGENOS EM AMBIENTES HOSPI-

TALARES: REVISÃO DE LITERATURA Orientador: Magyda Arabia Araji Dahroug Área de Concentração: Bacteriologia

Devido a grande preocupação com a transmissão de patógenos dentro de ambientes hospitalares, inúmeros trabalhos tem sido desenvolvidos nessa área, principalmente com as formigas. Isso se dá pelo fato desses insetos terem se adaptado muito bem a vida urbana, além da facilidade de se deslocarem e também sua forma de vida fossorial, sem falar na abundância de alimento que é encontrado em qualquer lugar por onde elas passam. Entre as espécies encontradas podemos destacar a *Pheidole sp.* e a *Tapinoma*, entre outras. Pelos trabalhos publicados no assunto, podemos destacar os de Costa, Silvia Baldan et al, 2006, que utilizaram iscas de mel e sardinha e placas justapostas contendo meio de cultura ágar-sangue, ressaltando que em todos foram feitas capturas de espécimes. Os resultados foram alarmantes tendo em vista os patógenos encontrados, entre eles os mais comuns foram o Staphylococcus sp, Enterobacter sp, Bacilos Gram Positivos e Negativos, além de fungos e algumas leveduras. Esses dados

mostram a grande importância em se manter a vigilância sanitária não só dentro como fora dos hospitais, afim de se evitar, ou minimizar as infecções e a transmissão desses ou de quaisquer outros patógenos.

Palavras- Chave: Formigas; transmissão de patógenos; ambiente hospitalar.

Autores: Alexandra Mendes Obelar MICRO-Esp-011

Título: FENOTIPAGEM DAS BACTÉRIAS ISOLADAS EM HEMOCULTURAS NO

LABORATÓRIO SÉRGIO FRANCO

Orientador: Efigênia de Lourdes Teixeira Amorim

Área de Concentração: Bacteriologia

O sangue é um líquido isento de micro-organismos. Quando um processo infeccioso se instala na corrente sanguínea tem-se uma bacteriemia. É indicativa de falha no sistema imune, devese localizar a infecção em foco primário, remover, drenar ou esterilizar este foco. A fungemia e a sepse, ou septicemia, estão entre as mais importantes sequelas de infecções. A septicemia é definida como uma síndrome clínica caracterizada por sinais sistêmicos de infecção, acompanhados de hemocultura positiva. A bacteriemia não implica necessariamente em sepse, que pode ser causada por micro-organismos não bacterianos. A detecção de patógenos bacterianos em hemoculturas é considerada um indicador da disseminação de um processo infeccioso, e tem sido reconhecido como um importante recurso diagnóstico nos episódios de infecções da corrente sanguínea. Conhecer as bactérias mais frequentes e o seu perfil de suscetibilidade é essencial para o direcionamento apropriado da terapia anti-microbiana nos pacientes com infecção. O presente trabalho teve como objetivo identificar o fenótipo e verificar a incidência das bactérias nas hemoculturas realizadas no Laboratório Sérgio Franco. Avaliamos os resultados de 103 pacientes com hemoculturas positivas realizadas no Laboratório Sérgio Franco em 2010, oriundas dos hospitais: Cardiotrauma, São Lucas, Mário Leoni, São Miguel, Evangélico, São José, Pasteur, Hospital das clínicas de Niterói, HPM e pacientes externos. A hemocultura automatizada foi realizada no equipamento BacT/ALERT 3D (Biomérieux) por detecção colorimétrica. No caso do frasco introduzido no equipamento positivar em até cinco dias, foi feito um repique em ágar sangue e este repique foi incubado por 24 horas. Havendo crescimento, realizou-se a coloração de Gram e as provas bioquímicas automatizadas, no equipamento Vitek 2 Compact (Biomérieux). Dentre as 103 hemoculturas positivas, identificamos 30 microorganismos, sendo o Staphylococcus hominis (coagulase negativa) o mais frequente, presente em 21 culturas positivas (17.60%), seguido de Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli entre outros.

Autores: Leandro Luiz RamosMICRO-Esp-012

Título: CRESCIMENTO MICROBIANO EM BIOFILMES

Área de Concentração: Bacteriologia

Nossa percepção de bactérias como organismos unicelulares baseia-se essencialmente no conceito de culturas puras, nas quais as células podem ser diluídas e estudadas a partir de culturas líquidas. Como praticamente todos os conceitos e conhecimentos microbiológicos foram adquiridos a partir do estudo de organismos em culturas puras, somente ha alguns anos começamos a entender que, na realidade, a maioria das bactérias encontra-se na natureza

vivendo em comunidades, de maior ou menor estruturação. Geralmente, a dinâmica de formação de um biofilme ocorre em etapas distintas. Inicialmente temos os organismos denominados colonizadores primários, que se aderem a uma superfície, geralmente contendo proteínas ou outros compostos orgânicos. As células aderidas passam a se desenvolver, originando micro colônias que sintetizam uma matriz exopolissacarídica (EPS), que passam a atuar como substrato para a aderência de micro-organismos denominados colonizadores secundários. Acredita-se que a formação de biofilmes esteja associada, por exemplo, à proteção contra o ambiente, ou seja, bactérias em um biofilme encontram-se abrigadas e em relativa homeostase, graças à presença da matriz exopolissacarídica, que é formada por proteínas, ácidos nucléicos e outros, e apresentam diferentes estruturas e funções de acordo com as comunidades e ou condições ambientais, onde presentes em um biofilme, as bactérias podem ser bem mais resistentes aos antimicrobianos. O objetivo deste trabalho é conhecer a importância dos biofilmes para o crescimento microbiano, aspectos sobre sua formação, seus efeitos em doenças, etc. A metodologia a ser aplicada neste trabalho será a revisão bibliográfica, tal como a revisão de artigos científicos sobre o assunto e relacionados sobre o mesmo.

Palestra realizada na IV Jornada de Pós-Graduação de Biologia Parasitária e Microbiologia

O gênero *Giardia* compreende seis espécies, sendo *G. duodenalis* parasita de várias espécies de mamíferos, inclusive humanos. Análises genéticas de isolados demonstraram que *G. duodenalis* trata-se de um complexo de espécies que possui pelo menos sete grupos (ou genótipos) distintos, denominados A a G. A giardíase humana, infecção gastrointestinal ocasionada por dois grupos geneticamente distintos (genótipos A e B) de *G. duodenalis*, possui distribuição global e alta prevalência nos países em desenvolvimento³. Juntamente com *Cryptosporidium* sp. e rotavírus, a *Giardia* é um dos mais freqüentes agentes etiológicos de diarréias em creches³. Deve-se igualmente considerar os altos níveis desta infecção em animais domésticos e silvestres relatados em estudos desenvolvidos em várias partes do mundo. Poucos estudos têm sido desenvolvidos nos países em desenvolvimento envolvendo a caracterização genética do parasito. Estudos de epidemiologia molecular são necessários para um melhor entendimento do padrão de disseminação da *G. duodenalis* nos hospedeiros mamíferos e para determinar a contribuição da variabilidade genética do parasito na manifestação e manutenção dos ciclos de transmissão da doença.

Estudos de genotipagem e prevalência deste parasito em populações humanas, de animais domésticos e silvestres, de diferentes regiões do Brasil, além de projetos de desenvolvimento de novas abordagens para genotipagem de *G. duodenalis*, através da caracterização de novos marcadores moleculares e utilização da PCR em Tempo Real com tecnologia *TaqMan*® têm sido desenvolvidos no nosso laboratório.

Para verificação do potencial antropozoonótico de *G. duodenalis* nosso grupo desenvolveu estudos de genotipagem de isolados de *G. duodenalis* oriundas de hospedeiros humanos e de animais domésticos (cães e gatos); referentes à população composta por funcionários e crianças com idade inferior a quatro anos, de uma creche municipal da cidade do Rio de Janeiro, RJ, Brasil e isolados de animais domésticos (cães e/ou gatos) destas crianças. Foi verificado que 27,7% (86/310) das crianças apresentavam cistos de *G. duodenalis* enquanto, apenas uma amostra (1,7%) da população adulta foi positiva. Desta amostra, 71,2% (62/87, 61 crianças e um adulto) amplificaram o fragmento de 753 pb correspondente a um segmento do gene da b-giardina. Sessenta e dois isolados humanos foram submetidos a PCR-RFLP e PCR-Sequenciamento. Sessenta amostras foram caracterizadas como genotipo A1 e duas amostras apresentaram-se como genotipo A2. As oito amostras de animais domésticos (sete de cães e uma de gato) também apresentaram perfil de genotipo A1 de *G. duodenalis*. Neste estudo foi encontrado um caso de criança e seu cão positivo para *G. duodenalis* genotipo A1, sugerindo a existência de ciclo zoonótico nesta população.

Ainda nessa linha, em 2008 nosso grupo desenvolveu estudo de genotipagem de isolados de *G. duodenalis* oriundas de hospedeiros primatas não humanos, *Alouatta clamitans* (bugios ruivos), referentes à população composta por bugios ruivos mantidos em cativeiro científico no estado de Santa Catarina, Brasil. Foi verificado que das 28 amostras analisadas 16 foram positivas na PCR e 15 destas foram caracterizadas como genótipo A1 e uma apresentou variabilidade intragenotípica, com SNPs diferencias. Esse resultado sugere que *A. clamitans* pode representar risco para contaminação ambiental com cistos de *G. duodenalis*, destacando-se como um problema de saúde pública, devido à evidência epidemiológica e molecular de existência de transmissão antropozoonótica.

Com o objetivo de ampliar o conhecimento sobre a diversidade genotípica de *G. duodenalis* circulante na população brasileira, desenvolvemos estudo com 100 amostras (83 humanas e 17 caninas) de São José do Rio Preto – SP, Brasil. Todas as amostras foram positivas para *G. duodenalis* no exame parasitológico e na detecção de coproantígenos. Cinqüenta e duas amostras humanas (52/83 - 62,7%) foram amplificadas pela PCR - b-giardina e 33 genotipadas como A1, 14 como A2 e cinco como A não 1 e não 2. Todas as 7 amostras caninas amplificadas também foram caracterizadas como A, sugerindo a existência de transmissão antropozoonótica nesta região.

A fim de determinar a prevalência e o significado zoonótico dos isolados de *G. duodenalis* oriundos de população canina da cidade do Rio de Janeiro, utilizamos testes parasitológicos, imunodiagnósticos (SNAP test) e moleculares em 51 amostras de fezes frescas de cães oriundos de diferentes regiões do município. Foram incluídas amostras de animais de abrigos (canis) e de companhia (residências). Os resultados obtidos pela análise do diagnóstico de 28 amostras de fezes de cães do Rio de Janeiro foram controversos. No exame parasitológico apenas uma amostra se apresentou positiva, enquanto que no teste imunodiagnóstico para detecção de coproantígeno de *Giárdia*, todas as amostras obtiveram resultado negativo. No Nested-PCR- b-giardina, 50% das amostras foram positivas. Desta forma, foi observado que existem diferenças significativas entre os três métodos. Apesar da fácil execução e do menor custo que as técnicas moleculares, o exame parasitológico apresentou alta especificidade, mas sensibilidade baixa, apresentando falsos negativos. O teste para detecção de coproantígenos utilizado não apresentou nenhum resultado positivo possivelmente devido à baixa carga parasitária nas amostras analisadas. A PCR mostrou-se mais vantajosa, mais sensível e específica na detecção de *G. duodenalis* nestas amostras clínicas.

Recentemente, observaram-se resultados discordantes na genotipagem de isolados de G. duodenalis, principalmente em nível intragenotípico, ao analisar sequências obtidas por PCR de marcadores moleculares já definidos. A busca de outros genes mais polimórficos poderia levar a uma subdivisão mais significativa de Giardia. Estas ferramentas poderiam ser usadas em estudos epidemiológicos para elucidar a questão do potencial zoonótico deste parasito e a manutenção do seu ciclo de vida. Estudos de análises de eletroforese de enzimas demonstraram que a enzima málica possui alto potencial discriminatório para isolados de G. duodenalis. Sendo assim, resolvemos avaliar o locus gênico da enzima málica como alvo para detecção e genotipagem de isolados de G. duodenalis. Oligonucleotídeos iniciadores baseados na sequência do gene ME, descrito no projeto genoma de Giardia, foram desenhados a fim de padronizar uma PCR para amplificação do referido alvo. A PCR-ME detectou até 17 pg de DNA e sua sensibilidade aproximadamente 10 vezes maior nos ensaio de nested/semi-nested. Vinte e nove amostras clínicas foram submetidas a dois semi-nested-PCRs e a um Nested-PCR. No primeiro semi-nested-PCR (utilizando os oligonucleotídeos MEP1 e MEP3) 65,5% (19/29) das amostras demonstraram produtos amplificados, no segundo semi-nested-PCR (utilizando os oligonucleotídeos MEP2 e MEP4) apenas 27,6% (8/29) se revelaram positivas e no Nested-PCR (utilizando os oligonucleotídeos MEP3 e MEP4) apenas 37,9% (11/29) apresentaram produtos de PCR. Das oito amostras analisadas neste estudo, três revelaram a presença de SNPs quando comparadas a sequência da ME da cepa WB. Sequências clonadas de duas amostras (G058 e G061) apresentaram SNPs em relação à sequência da WB que não foram observados nos demais clones da mesma amostra, sugerindo a possibilidade de infecção mista, heterozigosidade alélica ou artefatos da polimerase. O segmento gênico da sequência codificante para ME que apresentou maior número de SNPs entre os isolados analisados em relação à cepa WB compreende os nucleotídeos entre as posições 318 e 959. Este segmento é proposto como novo alvo para genotipagem de isolados de *G. duodenalis*.

Atualmente estamos desenvolvendo um projeto de aplicação da PCR-ME em amostras clínicas para diagnóstico da giardíase e padronização e aplicação da técnica de PCR em Tempo Real tendo como alvo o locus da ME para detecção e genotipagem de isolados de *G duodenalis*. Inicialmente, foi desenvolvido estudo comparativo do desempenho das PCRs e ME no diagnóstico de 100 amostras (83 humanas e 17 caninas) positivas para *G duodenalis* no exame parasitológico. Cinquenta e nove amostras foram amplificadas pela b-giardina, enquanto apenas nove amostras pela ME, havendo convergência de resultados positivos em sete destas. Tais resultados sugerem a necessidade da realização de ajustes nos parâmetros da PCR-ME. Além dos problemas inerentes à técnica, uma das explicações para a não correlação dos resultados é a ocorrência de mutações nas regiões de anelamento dos *primers*. Maiores estudos para caracterização molecular destes isolados serão realizados. O sequenciamento destes *amplicons* assim como a PCR em tempo real da ME encontram-se em fase de desenvolvimento.

ALINE CARDOSO CASECA VOLOTÃO

Tipagem Molecular de *Giardia duodenalis*. Avanços no Diagnóstico Molecular das Parasitoses Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz