

CICLO CARLOS CHAGAS

DE PALESTRAS

4ª EDIÇÃO

LIVRO DE RESUMOS

Realização

IOC
Instituto Oswaldo Cruz

 Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

Prezados participantes,

O Ciclo Carlos Chagas de Palestras (CCCP) foi criado em 2013 como uma forma de apoio ao calendário de eventos internacionais na "Semana de Chagas" e na [Federação de Portadores da Enfermidade de Chagas – FINDECHAGAS](#), diante da necessidade de manter uma pauta de discussão sobre a doença de Chagas diante de tantos desafios que ainda precisam ser enfrentados. É uma oportunidade de reunir pesquisadores da Fiocruz e de outras Instituições, nacionais e internacionais, para refletir sobre os desafios atuais da pesquisa na doença de Chagas e criar mais oportunidades para interações. Neste ano, realizaremos a 4ª Edição do CCCP com o tema 'Interação parasito/hospedeiro: consequências biológicas', e temos o prazer de ser um fórum de lançamento da Associação de Pessoas Afetadas pela doença de Chagas do Rio de Janeiro.

Este é um ano de reafirmação de nossa disposição em continuar fazendo o que acreditamos em nome da ciência e da boa formação de nossos estudantes. Contamos com o apoio financeiro e colaboração dos Programas de Pós-graduação em Biologia Parasitária e Biologia Celular e Molecular do IOC, e dos Laboratórios de Biologia das Interações (LBI/IOC) e de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos (LITEB/IOC). Além disso, tivemos o apoio logístico do Núcleo de Eventos do IOC.

Agradecemos aos palestrantes que gentilmente compartilham conosco seu conhecimento e aos participantes por expressarem mais uma vez o interesse, e assim nos estimular com suas inscrições e envio de resumos. Agradecemos aos avaliadores de resumos que doaram seu tempo e conhecimento na análise e seleção do material a ser apresentado nas *Express Communication* e no Centro de Estudos Especial. Todos os resumos estarão disponíveis *on line* na página do IOC e no *Research Gate*.

Momentos difíceis como estes anos 2015 e 2016 nos fazem olhar para trás e ver que na Fiocruz enfrentamos problemas e saímos fortalecidos. Se considerarmos a história mais recente, a geração de 60-70, com a perseguição política (e o Massacre de Manguinhos), nos trouxe a resistência e, anos depois, a democracia. A geração 80-90, das crises econômicas nos trouxe a garra, a criatividade e a resiliência. Esperamos que, em breve, digam que nós trouxemos a solidariedade, a resistência e a renovação da esperança para a geração futura.

Que todos nós continuemos a vivenciar o que Oswaldo Cruz ensinou: '*Não podemos esmorecer para não desmerecer*'.

Por isto aqui estamos. Aproveitem!

Joseli Lannes e Luciana Garzoni

Auditório Emmanuel Dias do Pavilhão Arthur Neiva (Cursos do IOC)

107 ANOS APÓS A DESCOBERTA: Interação parasito/hospedeiro: consequências biológicas

ORGANIZADORES: LUCIANA GARZONI & JOSELI LANNES

PROGRAMA

14 abril de 2016

9h – 9h30 Abertura

Presidência da Fiocruz Paulo Gadelha, Diretoria do IOC e Organizadores

9h40 – 10h30

Palestrante: **Bianca Zingales / USP**

Diversidade genética do *Trypanosoma cruzi*: implicações biológicas e consequências clínicas

10h30 – 10h45 Coffee Break

Interação do parasito com vetor – Debatedora Jane Costa/IOC

10h45 – 11h15

Palestrante: **Felipe de Almeida Dias / UFRJ**

Expressão gênica no intestino de *Rhodnius prolixus*: efeito da alimentação e da infecção com o *Trypanosoma cruzi*

11h15 – 11h45

Express communication (1,2) – Coordenador Fernando Genta/IOC

11h45 – 12h15

Palestrante: **Alessandra A Guarneri / CPqRR**

Vivendo com *Trypanosoma cruzi*: os custos da infecção para os triatomíneos

Intervalo de Almoço – 12h15 – 14h

Relação do parasito com hospedeiro vertebrado – Debatedora Mariana Waghabi/IOC

14h – 14h30

Palestrante: **Claudia Paiva / UFRJ**

O estresse oxidativo na infecção por *Trypanosoma cruzi*

14h30 – 15h

Express communication (3, 4, 5) – Coordenador Andrea Alice da Silva/UFF

14h45 – 15h15

Palestrante: **Tatiana Galvão / IOC/Fiocruz**

Decifrando a interface entre *Trypanosoma cruzi* e cardiomiócitos: décadas de uma íntima relação

15h15 – 15h30 Coffee Break

Relação do parasito com hospedeiro vertebrado – Debatedora Ana Maria Jansen/IOC

15h30 – 16h

Palestrante: **Juliana De Meis /IOC/Fiocruz**

Desvendando a Doença de Chagas transmitida por via oral: tecidos alvos e resposta imune do hospedeiro

16h – 16h30

Express communication (6,7) – Coordenador Otacílio Moreira/IOC

16h30 – 17h20

Palestrante: **Nobuko Yoshida /EPM/UNIFESP**

Fatores envolvidos na infecção oral por *Trypanosoma cruzi*

15 abril de 2016

Centro de Estudos Especial

9h – 10h

Apresentação dos 3 trabalhos selecionados

115 anos da Coleção Entomológica do IOC/Fiocruz – Jane Costa

10h – 11h

Ricardo Tostes Gazzinelli /CPqRR/UFMG

Interação do *Trypanosoma cruzi* com o sistema imunológico

11h – 12h

Lançamento da Associação de Pessoas Afetadas pela doença de Chagas do Rio de Janeiro

Tania Araújo-Jorge/IOC, Andrea Silvestre/INI e Presidente APADC-RJ

Encerramento

Resumos selecionados para *Express communication*
(14/04 – 7 min + 2 min discussão)

- 1- Resumo 45:** Jurberg *et al.* Educação como base ao controle dos vetores. O papel do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos na educação
- 2- Resumo 104:** De Souza *et al.* Glicosidases digestivas de *Rhodnius prolixus* e sua participação na digestão
- 3- Resumo 44A:** Vilar-Pereira *et al.* Beneficial effect of Benznidazole and Fluoxetine in depressive-like behavior in experimental chronic *Trypanosoma cruzi* infection
- 4- Resumo 68:** Gonzaga *et al.* Efeito do tratamento com lovastatina sobre a recuperação da microcirculação cerebral durante a doença de Chagas aguda em modelo murino
- 5- Resumo 78:** Ferreira *et al.* Proteínas envolvidas na vida de sinalização do TGF- β são reguladas positivamente durante a fase aguda experimental da doença de Chagas
- 6- Resumo 19:** Gomes *et al.* Produção de nocautes do gene TcNTPDase-1 em *Trypanosoma cruzi*
- 7- Resumo 75:** Branco *et al.* Desenvolvimento de Novos 1,2,4-triazóis como Inibidores de *Trypanosoma cruzi*

Resumos selecionados para Apresentação Oral Centro de Estudos
(15/04 – 12 min + 3 min discussão)

- 1- Resumo 20:** Finamore, P *et al.* Diagnóstico molecular e quantificação da carga parasitária de triatomíneos infectados por *Trypanosoma cruzi*
- 2- Resumo 94:** Stahl Vieira *et al.* Influência da infecção por diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* na expressão gênica de peptídeos antimicrobianos e microbiota intestinal de *Rhodnius prolixus*
- 3- Resumo 55:** Guedes da Silva *et al.* Atividade do *m-Terphenyl bis-Arylimidamide* sobre diferentes cepas e formas do *Trypanosoma cruzi*

Resumo a convite

Os 115 anos da CEIOC – Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz

Jane Costa

Curadora da Coleção Entomológica

Laboratório de Biodiversidade Entomológica/IOC

As primeiras expedições científicas realizadas por pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz ocorreram no final do século XIX e início do século XX, tendo como objetivo estudos sobre a biodiversidade, os vetores das doenças infecciosas e o levantamento da saúde da população no interior do Brasil. Em decorrência destas atividades, nasce a Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz (CEIOC), que hoje abriga mais de cinco milhões de exemplares, sendo um testemunho da ciência, de sua história e da biodiversidade brasileiras. O marco simbólico do início deste precioso acervo é o depósito dos tipos de *Anopheles lutzii*, mosquito transmissor de malária, descrito pelo próprio Oswaldo Cruz em 1901. Hoje a CEIOC, com o apoio das políticas institucionais tem sua infraestrutura modernizada e mantém uma dinâmica colaborativa e aberta com inúmeras instituições no Brasil e no exterior. Como parte das comemorações dos 115 anos da CEIOC, nas trilhas da ciência e da história, várias atividades estão sendo preparadas para enaltecer não só a importância deste valioso acervo, mas também como reconhecimento aos pesquisadores que contribuíram e contribuem para sua formação. A CEIOC continua a crescer como um pilar importante para incontáveis publicações, teses, atividades educativas e de divulgação científica, sendo reconhecida como uma das mais antigas e valiosas coleções da América Latina.

Com o apoio do CNPq, Faperj, BNDES

Aspectos clínicos, estudos de polimorfismos genéticos

Resumo 22

Avaliação do kDNA como alvo para tipagem molecular de *Trypanosoma cruzi* utilizando *High Resolution Melting*

Ronald Martins; Ícaro Rodrigues Santos; Constança Britto; Otacilio Moreira

Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas (LABIMDOE), IOC-FIOCRUZ

A doença de Chagas é uma doença endêmica ainda negligenciada, causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*. Diferentes manifestações clínicas são apresentadas, porém ainda são desconhecidas as contribuições da heterogeneidade genética do parasito e do hospedeiro para o curso da doença. Em 1980, Morel e colaboradores demonstraram que o DNA de kinetoplasto (kDNA) pode ser usado para caracterizar cepas e clones de *T. cruzi*, sendo classificados em esquizodemas. Atualmente, a técnica de genotipagem de *T. cruzi* é baseada em PCR convencional *multilocus*, utilizando diferentes marcadores de DNA nuclear. Entretanto, esta metodologia apresenta algumas limitações, como ausência de produtos amplificados e menor sensibilidade para amostras clínicas. Portanto, este trabalho consiste em avaliar o potencial do kDNA como alvo molecular na genotipagem de *T. cruzi* pela técnica de *High Resolution Melting* (HRM). Para realizar a amplificação do fragmento da região conservada dos minicírculos do kDNA, foram desenhados iniciadores baseados no alinhamento de 131 sequências de 19 cepas representando 4 DTUs (I, II, V e VI) retiradas do GenBank (NCBI). Foi observada uma região polimórfica de 11 pares de base flanqueada por duas regiões bastante conservadas, que demonstrou alto potencial para diferenciação de subpopulações do parasito. Para os ensaios de HRM, foram utilizadas 9 cepas/clones de referência englobando as 6 unidades discretas de tipagem (DTUs): Colombiana, Dm28c, Y, 3663, 4167, Bug2149, LL014 cl.1, CL e CL14. Os ensaios de HRM visando a região conservada do kDNA foram capazes de distinguir os isolados de *T. cruzi* em 3 variáveis. Inclusive, permitiu separar as cepas de referência das regiões ditas silvestres (DTUs III e IV) das demais. A fim de mimetizar a aplicação desta reação em amostras de sangue de portadores da doença de Chagas, foram realizados ensaios de HRM utilizando amostras de sangue artificialmente contaminadas com *T. cruzi*, e foi observado um perfil de genotipagem similar aos ensaios utilizando amostras de cultura. Portanto, nossos resultados sugerem um elevado potencial do kDNA como alvo molecular utilizando a técnica de HRM, a fim de genotipar *Trypanosoma cruzi* em amostras de cultura ou amostras de portadores de doença de Chagas.

Financiadores: FAPERJ/ CNPq.

Aspectos clínicos, estudos de polimorfismos genéticos

Resumo 39

Study of genetic polymorphisms association with development of cardiac form in chronic Chagas disease

Angelica Martins Batista¹, Lucia Elena Alvarado Arnez², Isabelle de Oliveira Moraes²,
Silvia Marinho Martins³, Wilson Oliveira Jr.³, Antonio Guilherme Pacheco⁴, Milton
Ozório Moraes², Joseli Lannes-Vieira¹

¹ Laboratório de Biologia das Interações /IOC-Fiocruz-RJ

² Laboratório de Hanseníase /IOC-Fiocruz-RJ

³ Ambulatório de Doença de Chagas e Insuficiência Cardíaca /PROCAPE-PE

⁴ Programa de Computação Científica /Fiocruz-RJ

e-mail: angelica_bmd@yahoo.com.br

Chagas disease (CD) presents a large clinical spectrum including cardiac, digestive and neurological manifestations. Several studies of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes that are involved in immune response to the protozoan *Trypanosoma cruzi* aim to investigate the impact of host genetic variation on influence in the development and progression of the cardiac form of CD. We aimed to characterize the association between candidate genes of *TNF* and *IL10* clusters with the clinical outcomes (non-cardiac and cardiac form) of chronic CD following a case-control association study. We recruited chagasic patients that attended to the service of the Ambulatório de Doença de Chagas e Insuficiência Cardíaca in Recife, Northeast of Brazil. The patients were classified in stages according to the I Latin American Guideline for the Diagnosis and Treatment of Chagas' Heart Disease: stage A (indeterminate form, n=110), B1 (cardiac form with no ventricular dysfunction, n=163) and C (cardiac form with ventricular dysfunction and current or previous heart failure symptoms). We evaluated the candidate SNPs *TNF* -308 (rs1800629), *BAT1* -22 (rs3853601), *LTA* +252 (rs909253), *IL10* -1082 (rs1800896), *IL10* -819 (rs1800871) and *IL10* -3575 (rs1800890). Statistical analysis between groups was performed by logistic regression with gender and ethnicity adjustment. Genotyping frequencies of minor allele carriers of each SNP were compared individually or combined by haplotypes within stage A *versus* B1 and A *versus* C for assessment of CD cardiac form. The cardiac involvement progression was evaluated comparing stages B1 *versus* C. The association study showed a protective role against the cardiac form progression from stage B1 to stage C, exclusively for G allele carriers *BAT1* -22 (rs3853601) (OR = 0.44; $p = 0.03$). The haplotypes analysis adjusted for gender and ethnicity indicated that the *TNF* -308G/*BAT1* -22G/*LTA* +252G haplotype is associated with protection (OR = 0.45; $p = 0.04$). It is worth pointing out that this combination of markers presents the same allele observed by individual analysis of *BAT1* -22 SNP. These preliminary data suggest association of *BAT1* -22G allele and *TNF* -308G/*BAT1* -22G/*LTA* +252G haplotype with protection against the progression from the mild to the severe cardiac form of CD in this cohort.

Financial support: CNPq, CAPES, FAPERJ

Aspectos clínicos, estudos de polimorfismos genéticos

Resumo 79

Isolation and classification of *Trypanosoma cruzi* TcI strain among stocks from chronic chagasic patients in ambulatory care at Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (Fiocruz, Brazil)

Tatiana da Silva Fonseca de Oliveira^{1,2}, Otílio Machado Pereira Bastos², Barbara Neves dos Santos¹, Tainah Silva Galdino³, Alejandro Marcel Hasslocher Moreno⁴, Maria Auxiliadora de Sousa^{1,5}

Coleção de Tripanossomatídeos¹, Laboratório de Toxoplasmose e Outras Protozooses⁵, IOC, Fiocruz, RJ; Departamento de Microbiologia e Parasitologia², Instituto Biomédico, UFF, RJ; Laboratório de Pesquisa Clínica em Doença de Chagas⁴, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, INI, Fiocruz, RJ; Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas³, IOC, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Introduction: *Trypanosoma cruzi* is the etiologic agent of the Chagas disease in humans, also circulating among domestic and wild animals throughout the Latin America countries. This species displays high genetic variability, and at present have been recognized seven main genotypes (TcI-TcVI and Tcbat). **Methods:** Nine isolates were obtained by hemoculture from chronic Chagas' disease patients under ambulatory care at Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI, Fiocruz). These patients proceeded from five Brazilian States (MG, PE, PB, BA, RS). After the morphological identification of the isolates as *T. cruzi*, they were analyzed by isoenzymes (GPI, PGM, ME, MDH), amplified products of kDNA minicircles and non-transcribed intergenic region of the mini-exon gene. One isolate was also analyzed by sequencing of a polymorphic *locus* of the TcSC5D gene. **Results:** Six isolates were identified as TcII, two as TcVI and only one as TcI. The latter was from an asymptomatic patient from Paraíba. **Conclusions:** We report the finding of the second case from chronic Chagas' disease by TcI in the State of Paraíba. TcII is the most common etiological agent of human chronic Chagas disease in Brazil, but there are rare reports of TcI human chronic infections, excepting in the Brazilian Amazon. Genetic typing of *T. cruzi* isolates is important also regarding possible correlations between the parasite genotype and the host responses to therapeutic drugs. This research was approved by Fiocruz Ethical Committee # 0050.0.009.000-05.

Support: Fiocruz, UFF, CAPES

Biologia celular e interação parasito/célula hospedeira

Resumo 28

Changes in the glycosylation of the molecules on the surface of CD8+ T cells during experimental *Trypanosoma cruzi* infection: PNA+ cells are activated and potentially able to migrate but not found in the cardiac tissue

Ruivo, L.A.S.; Vilar-Pereira, G., Pereira, I.R., Fonseca, L.M.,
Mendonça-Previato, L., Previato, J.O., Lannes-Vieira, J

Changes in glycosylation profile of proteins, cells and tissues have been used as biological markers of physiological and pathological processes. Glycoconjugates containing sialic acid terminal (Neu5Ac) are involved in cell and host-parasite interactions, lymphocyte traffic and regulation of the immune system. *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease (CD), expresses on the surface and releases in the host plasma, an enzyme restricted to the genus *Trypanosoma*, the *trans*-sialidase (TS). This enzyme transfers Neu5Ac from donor molecules and relocates them on parasite surface molecules or sialylates glycoproteins of the host cells. Previously data show that naïve CD8⁺ T cells display CD62L⁺CD44⁻ phenotype. On the other hand, CD44⁺CD62L⁻ profile indicates cells in a primed/activated state. During *T. cruzi* infection, most of the mononuclear cells infiltrating the heart tissue are CD8⁺ T-cells. Further, most of these inflammatory cells are activated cells expressing the cell adhesion molecule LFA-1 and the CC-chemokine receptor CCR5. In the present study, we challenged the idea that in *T. cruzi* infection there are glyco-phenotype changes in the heart tissue and in CD8⁺ T lymphocytes in association with their functional activation/migration phenotype. Glyco-phenotypes present in the cardiac tissue and splenic cells were analyzed using a lectin-based immunohistochemistry and flow cytometry, respectively. In the cardiac tissue, we observed reduced staining for the lectin *Peanut agglutinin* (PNA), increased for *Sambucus nigra* (SNA) and no alterations for *Maackia amurensis* (MAL) in muscle and inflammatory cells. In the acute (42 dpi) and chronic (120 dpi) phases, we noticed increased frequency of PNA⁺ cells among CD8⁺CD43⁺ and CD4⁺CD43⁺ T cells, reduced percentage of SNA⁺ cells among CD8⁺ and CD4⁺ T cells and decreased proportion of MAL⁺ cells among CD4⁺ and CD8⁺CD4⁺ T cells. Total and PNA⁺ CD8⁺ T cells showed similar profiles of activation (CD44⁺CD62L⁻) and migration (LFA-1⁺CCR5⁺ or LFA-1⁺CCR1⁺) cells among splenic CD8⁺PNA⁺ cells. Thus, in experimental CD PNA⁺CD8⁺T cells are activated and potentially able to migrate towards heart tissue; however, PNA⁺ cells were not detected in this tissue. It remains to be clarified whether these cells do not migrate towards this tissue, accumulating in peripheral tissues, or whether they enter the cardiac tissue but have their glyco-phenotype modified or selectively dye. Our finds open new pathways to be explored studying the compartmentalization of glyco-phenotypically distinct cells associated with progression of cardiac disease in *T. cruzi* infection.

Supported by: CNPq, FAPERJ, DECIT/MS.

Biologia celular e interação parasito/célula hospedeira

Resumo 69

Papel do VEGF e do seu receptor Flk-1 durante a infecção pelo *T. cruzi* em células endoteliais da microcirculação cerebral

Daniella Evelyn Generoso da Silva, Lindice Mitie Nisimura, Luciana Ribeiro Garzoni
Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, IOC - Fiocruz

A doença de Chagas é uma doença negligenciada que possui um significativo impacto limitador na qualidade de vida de seus portadores. A cardiomiopatia é a sua principal manifestação, porém, também são observadas manifestações digestivas e neurológicas que incluem disfunção do sistema nervoso autônomo e do sistema nervoso central. Estudos do nosso grupo vêm demonstrando que durante a infecção aguda pelo *T. cruzi* ocorrem importantes alterações dos mecanismos reguladores da angiogênese e permeabilidade vascular no coração de animais infectados. Além disso verificamos importante vasculopatia cerebral durante a doença de Chagas aguda em camundongos. A motivação do presente estudo vem da necessidade de um maior entendimento das alterações vasculares cerebrais e do seu papel nos danos ao sistema nervoso central na doença de Chagas. A hipótese do presente estudo é de que a infecção pelo *T. cruzi* altera a expressão de VEGF (fator de crescimento de endotélio vascular), de seu receptor Flk-1 e da proteína VE-caderina responsável pelo controle da permeabilidade vascular, em células endoteliais da microcirculação cerebral e que estas moléculas podem ainda estar envolvidas no processo de invasão e no desenvolvimento intracelular do parasita. Desta forma, o objetivo do presente estudo é avaliar o papel do *T. cruzi* na expressão de VEGF e Flk-1 no tecido cerebral de camundongos durante a infecção aguda pelo *T. cruzi* e investigar o efeito da infecção *in vitro* na expressão destas moléculas em células da microcirculação cerebral (Bend-3). Além disso avaliaremos o possível papel de VEGF e Flk-1 no processo de invasão e manutenção durante a infecção de células BEND-3 pelo *T. cruzi*. As análises foram realizadas através de Western blotting e imunofluorescência. Nossos resultados preliminares demonstram que durante a infecção pelo *T. cruzi* há menor expressão de VEGF no 8º dia pós infecção em relação aos animais não infectados e que nos dias 15 e 22 pós infecção, ocorre aumento de VEGF no cérebro dos animais. A análise de VE-caderina por Western blotting detectou uma banda única, porém fora do peso esperado.

Apoio Financeiro: PIBIC, CNPq, Fiocruz

Biologia celular e interação parasito/célula hospedeira

Resumo 73

Efeito da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* e do TNF sobre a ativação de fibroblastos cardíacos *in vitro*

Laura Lacerda Coelho¹; Daniel Adesse³; Mirian Cláudia de Souza Pereira⁴; Isabela Rezende Pereira²; Joseli Lannes-Vieira²; Luciana Ribeiro Garzoni¹

¹Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, ²Laboratório de Biologia das Interações, ³Laboratório de Biologia Estrutural, ⁴Laboratório de Ultra-Estrutura Celular - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

A fibrose cardíaca é uma importante manifestação da cardiomiopatia chagásica. O papel dos fibroblastos cardíacos (FCs) nesse processo é pouco estudado. Nesse trabalho investigamos o efeito da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) e do fator de necrose tumoral (TNF) sobre a ativação de FCs *in vitro*, visando compreender o papel de FCs ativados no processo de gênese da fibrose cardíaca na infecção chagásica. Os FCs foram obtidos a partir de culturas primárias de células cardíacas de fetos de camundongos Swiss Webster, e sua ativação avaliada através da análise da proliferação, diferenciação destas células em miofibroblastos e a expressão de proteínas de matriz extracelular (ECM) através de imunofluorescência (IF) e *Western blotting* (WB). A caracterização das culturas foi feita através de análise morfológica e funcional e pela análise da expressão dos marcadores tropomiosina sarcomérica (TS) e receptor de domínio de discoidina 2 (DDR2). No nosso sistema de cultivo, 40% dos FCs foram infectados pelo *T. cruzi* quando utilizamos uma multiplicidade de infecção (MOI) igual a 10 e 24h de interação. As análises da expressão de alfa actina de músculo liso (α -SMA) por WB, revelaram aumento desta proteína nas culturas infectadas sugerindo diferenciação para miofibroblasto nos tempos de 6h e 24h pós-infecção. As análises de proteínas de ECM revelaram aumento na expressão de fibronectina (FN) após 6h, 24h e 48h de infecção e de laminina (LN) após 6h e 24h, quando comparadas as culturas não infectadas. O tratamento com TNF não estimulou a produção de TNF e NO pelos FCs. TNF também não induziu a diferenciação e a síntese de ECM, porém influenciou o processo de proliferação destas células, revelado pelo aumento de células ki-67+ por IF. Ainda, a citocina reduziu as taxas de infecção dos FCs pelo parasita. Assim, nossos resultados demonstram um efeito da infecção pelo *T. cruzi* e do TNF sobre a ativação de fibroblastos cardíacos, seja através da indução de diferenciação celular e expressão de proteínas de ECM, ou ainda pela indução de proliferação dos FCs, processos estes que podem contribuir para a gênese da fibrose cardíaca observada na doença de Chagas.

Apoio: CNPq, FAPERJ, Fiocruz

Biologia celular e interação parasito/célula hospedeira

Resumo 78

(Apresentação Oral Express Communication - 14/04)

Proteínas envolvidas na via de sinalização do TGF- β são reguladas positivamente durante a fase aguda experimental da doença de Chagas

Ferreira RR¹, de Souza EM², de Oliveira FL¹, Ferrão PM¹, Gomes LH¹, Mendonça-Lima L¹, Meuser-Batista M², Bailly S³, Feige JJ³, de Araujo-Jorge TC², Waghbi MC⁴.

¹Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática-Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro RJ, Brazil. ²Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos-Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro RJ, Brazil. ³INSERM, U1036, Grenoble F-38000, France; University Grenoble-Alpes, Grenoble F-38000, France; CEA, DSV, IRTSV, Laboratory of Biology of Cancer and Infection, Grenoble F-38000, France.

⁴Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática-Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro RJ, Brazil.

Estudos desenvolvidos pelo nosso grupo têm demonstrado o envolvimento do TGF- β na cardiopatia chagásica aguda e crônica, com aumento da concentração plasmática e ativação da via de sinalização do TGF- β em pacientes nos estágios avançados da doença de Chagas, quando é observado presença de fibrose cardíaca. O desequilíbrio na síntese e degradação de componentes da matriz extracelular é a base do desenvolvimento da fibrose patológica e o TGF- β é considerado como um dos principais reguladores envolvido nesse processo. No presente estudo, investigamos a atividade da via de sinalização de TGF- β , incluindo os receptores (tipo I e II) e a ativação de proteínas de sinalização clássica (Smad2/3) e alternativa (p38, ERK e JNK), no coração de animais infectados experimentalmente com *Trypanosoma cruzi* durante o período que mimetiza a fase aguda da doença de Chagas. Observamos que os animais infectados com *T. cruzi* apresentaram aumento da expressão dos receptores de TGF- β . A superexpressão dos receptores, foi acompanhada pelo aumento da fosforilação das proteínas Smad2/3, p38 e ERK. Além disso, correlacionamos essas atividades com fatores celulares envolvidos no processo fibrótico induzido por TGF- β . Desta forma, observamos que a expressão de colágeno I, fibronectina e CTGF aumentou no coração dos animais infectados no 15º dia após a infecção. Correlacionado com o aumento da atividade do TGF- β no coração, identificamos também que a concentração do TGF- β total no soro dos animais foi significativamente mais elevada durante a infecção aguda quando comparado com animais não infectados. Em conjunto, nossos dados sugerem que o acometimento do tecido cardíaco está associado com o aumento da atividade da via de sinalização e expressão dos principais componentes responsivos ao TGF- β . Os nossos resultados confirmam a importância do TGF- β no desenvolvimento e na manutenção da lesão cardíaca causada pela infecção por *T. cruzi* durante a fase aguda da doença de Chagas.

Apoio financeiro: IOC-FIOCRUZ, CNPq e INSERM.

Biologia celular e interação parasito/célula hospedeira

Resumo 103

Sarcoplasmic reticulum distribution during intracellular cycle of *Trypanosoma cruzi* in cardiomyocytes.

SILVA NETO, DT, MEIRELLES MNL AND PEREIRA, MCS
FIOCRUZ, RIO DE JANEIRO - RJ - BRASIL

The survival strategies of *Trypanosoma cruzi* in host cell require adaptations to hostile environment during its intracellular cycle. In many models of microbes-host cell interactions, the nutrients acquisition occurs through modulation of intracellular trafficking of host cell using endoplasmic reticulum (ER) elements. In this study, we evaluated the role of host sarcoplasmic reticulum (SR), an organelle that has been reported to interact with the parasitophorous vacuole of different microbes (Canton et al., 2012; Goldszmid et al., 2009), in the intracellular development of *T. cruzi*. Indirect immunofluorescence was performed to detect the protein disulfide isomerase (PDI) in control and *T. cruzi*-infected cardiomyocytes. The cultures were fixed with 4% PFA, permeabilized with Triton X-100 and then, incubated with anti-PDI antibody (1:100). The antigen-antibody complex was detected with anti-rabbit Alexa 546 antibody (1:1000). Ultrastructural cytochemistry for glucose-6-phosphatase (G6pase) and potassium iodide(KI)-osmium tetroxide (OsO₄) impregnation was performed during *T. cruzi*-host cell interaction (24 to 96h). PDI staining was visualized in the SR network and around intracellular parasites at early (24h) and later (72h) stages of infection. After 72h of infection, G6pase analysis revealed an electron-dense product in nuclear envelope (NE), SR and in the cytoplasmic region surrounding the intracellular parasites. Positive reaction was also observed in intracellular structures of the parasites, such as Golgi apparatus and vesicles, and also at the flagellar pocket. The KI-OsO₄ impregnation revealed an intense reaction in NE and SR profiles of host cell and also located around intracellular parasites. The reaction was also detected at the NE, ER tubules, transport vesicles and Golgi cisternae in the parasites. These data suggest alteration of the G6pase distribution during *T. cruzi* intracellular development.

Support: FAPERJ & CNPq

References:

1. Canton J, Ndjamen B, Hatsuzawa K, Kima PE. Disruption of the fusion of Leishmania parasitophorous vacuoles with ER vesicles results in the control of the infection. *Cell Microbiol.* 2012 Jun;14(6):937-48. doi: 10.1111/j.1462-5822.2012.01767.x. Epub 2012 Feb 24.;
2. Goldszmid RS, Coppens I, Lev A, Caspar P, Mellman I, Sher A. Host ER-parasitophorous vacuole interaction provides a route of entry for antigen cross-presentation in *Toxoplasma gondii*-infected dendritic cells. *J Exp Med.* 2009 Feb 16;206(2):399-410. doi: 10.1084/jem.20082108. Epub 2009 Jan 19.

Comportamento de vetor e hospedeiro

Resumo 44B

BEHAVIORAL ALTERATIONS ARE INDEPENDENT OF SICKNESS BEHAVIOR IN EXPERIMENTAL CHRONIC *TRYPANOSOMA CRUZI* INFECTION

Vilar-Pereira, G.¹; Ruivo, L.A.S.¹; Silva, A.A.², Lannes-Vieira, J.¹

1 Laboratório de Biologia das Interações, Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, Brasil.

2 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, UFF, Rua Marquês do Paraná, 303, Centro, Niterói, RJ, Brasil

The existence of the nervous form of Chagas disease is a matter of discussion since Carlos Chagas described neurological disorders, learning and behavioral alterations in *Trypanosoma cruzi*-infected individuals. In most patients, the clinical manifestations of the acute phase, including neurological abnormalities, resolve spontaneously without apparent consequence in the chronic phase of infection. However, chronic Chagas disease patients have behavioral changes such as psychomotor alterations, attention and memory deficits, and depression. In the present study, we tested whether or not behavioral alterations are reproducible in experimental models. We show that C57BL/6 mice chronically infected with the Colombian strain of *T. cruzi* (150 days post infection) exhibit behavioral changes as (i) depression in the tail suspension and forced swim tests, (ii) anxiety analyzed by elevated plus maze and open field test and (iii) motor coordination in the rotarod test. These alterations are neither associated with neuromuscular disorders assessed by the grip strength test nor with sickness behavior analyzed by temperature variation and weight loss. Therefore, chronically *T. cruzi*-infected mice replicate behavioral alterations (depression and anxiety) detected in Chagas disease patients opening an opportunity to study the interconnection and the physiopathology of these two biological processes in an infectious scenario.

Keywords: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, behavioral alterations, sickness behavior, depression, anxiety

Financial support: FAPERJ, INCTV/CNPq, CAPES.

Comportamento de vetor e hospedeiro

Resumo 71

Biologia Comparativa de *Rhodnius stali* Lent, Jurberg & Galvão, 1993 e *Rhodnius pictipes* Stål, 1872 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) em condições de Laboratório

Solange Ribeiro Peixoto & José Jurberg

Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos
LNIRTT/FIOCRUZ/IOC

A Doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana é uma doença parasitária, que possui como agente etiológico o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). Considerada uma das quatorze zoonoses ditas como negligenciadas. Somente na América Latina, estima-se de que 7-8 milhões de pessoas estejam infectadas e mais de 25 milhões vivendo em área de risco (WHO, 2015).

O controle vetorial ainda permanece como estratégia singular, no controle desta doença assim, conhecer os parâmetros biológicos de espécies como *R. stali* Lent, Jurberg & Galvão, 1993 e *R. pictipes* Stål, 1872 são essenciais no direcionamento de ações de controle, principalmente em regiões onde estas colonizam casas, como no Alto Beni, Bolívia. O presente trabalho descreveu o ciclo biológico da espécie críptica *R. stali*, e *R. pictipes* em condições de laboratório. Foram separadas 30 ninfas de quinto estágio de ambas as espécies para obtenção de adultos. Inicialmente os insetos foram alimentados duas vezes por semana, em camundongos *Mus musculus* (Linnaeus, 1758). Após a postura, 150 ovos de *R.stali* e *R.pictipes* foram agrupados pela data de postura para determinar o período de eclosão. Após a eclosão as ninfas de 1º estágio (NI) foram separadas individualmente para observação das posteriores ecdises e alimentadas uma vez por semana. Os insetos foram mantidos em temperatura ambiente no insetário do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos durante todo o ciclo, com temperatura média registrada 21°C e umidade relativa (UR) 68%. *R.pictipes* apresentou uma taxa de eclosão dos ovos maior 86,67% quando comparado com *R.stali* 83,34%, e um período menor de incubação dos ovos 15,35±4,56 dias, enquanto *R.stali* apresentou um período de 18,02 ± 3,98 dias. A duração do ciclo biológico de ovo- adulto (AD) também foi menor para *R.pictipes* 111,7±5,00 dias quando comparado com *R.stali* que completou o ciclo em 134,4 ± 3,62 dias. Concluiu-se que *R. stali* possui um ciclo biológico mais longo quando comparado com algumas espécies do gênero. *R. pictipes* apresentou, nas condições ambientais do presente trabalho, o menor ciclo biológico descrito na literatura até o momento. Foi possível observar que *R. stali* é capaz de realizar em média três ciclos ao ano, enquanto *R.pictipes* quase quatro ciclos. Os dados de biologia comparada obtidos no presente trabalho corroboram a diferenciação de espécies realizada por Jurberg, Lent & Galvão em 1993, através da análise da genitália masculina como ferramenta na diferenciação de espécie.

Apoio financeiro: CNPq; SVS (Secretaria de Vigilância em Saúde)

Diagnóstico

Resumo 38

Standardization of a polymerase chain reaction for kDNA detection in blood samples artificially spiked with *Trypanosoma cruzi*

Thayse do Espírito Santo Protásio da Silva¹, Otacilio da Cruz Moreira², Constança Britto², Joseli Lannes-Vieira¹, Angelica Martins Batista¹

¹Laboratório de Biologia das Interações, IOC/FIOCRUZ-RJ

²Laboratório de Biologia Molecular de Doenças Endêmicas, IOC/FIOCRUZ-RJ

The protozoan *Trypanosoma cruzi* is the etiologic agent of Chagas disease (CD), which presents two distinct phases. The acute phase is characterized by high parasitemia and the chronic phase by low and intermittent parasitemia. Molecular diagnostic methods such as the polymerase chain reaction (PCR) may be useful to detect *T. cruzi* DNA in blood samples of chronic chagasic patients. The aim of our study was to standardize a conventional PCR method for detection of *T. cruzi* kDNA in pre-frozen blood samples artificially spiked with three distinct strains of the parasite. Blood samples from seronegative CD individuals were frozen at -20 °C and thawed to room temperature three times in order to simulate the conditions of clinical samples to be analyzed in a subsequent study. After addition of guanidine-EDTA v / v to 300 µL of each sample, these were boiled for 1 min, stored at room temperature overnight and then spiked with cultured epimastigotes forms of *T. cruzi* (0.5 and 10⁵parasites / ml). We used CL Brener, Dm28c and Y strains, referenced by the DTUs (discrete typing units) Tc VI, Tc I and Tc II, respectively. DNA isolation was performed by "High Pure PCR Template Preparation Kit" (Roche). PCR was carried out in a TC-512 thermocycler (Techne). For kDNA amplification we used GoTaq® Green Master Mix 1X, 10µM of each primer 121 (5'AAATAATGTACGGG(T/G)GAGATGCATGA3') and 122 (5'GGTTCGATTGGGGTTGGTGA ATATA3'), 5 µl of DNA and bi-distilled water to a total volume of 50 µl. The cycling conditions were: 95 °C - 3 min; 95 °C - 1 min, 64.5 °C - 1 min, 72 °C - 2 min (38 times) and final extension at 72 °C - 10 min. The annealing temperature was tested from 64 to 65 °C with 0.5 °C increment. Negative controls were included to ensure the absence of contaminants in the reaction. The amplified product was visualized on 1.5% agarose gel under ultraviolet light. It was possible to observe an amplicon of 330 bp, corresponding to a kDNA fragment of *T. cruzi* when the annealing temperature of 64.5 °C was tested. Further experiments are necessary to reproduce results in clinical samples. A standardized PCR method will allow us to identify positive samples for a future parasite genotyping in a well clinically characterized population.

Financial support: IC/CNPq, FAPERJ, DECIT/MS

Educação/informação

Resumo 45

(Apresentação Oral Express Communication - 14/04)

Educação como base ao controle dos vetores. O papel do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos na educação

José Jurberg; Cleber Galvão; Dayse Rocha; Felipe.F.F.Moreira; Carolina Dale; Juliana M.S. Rodrigues; Valdir D. Lamas Jr; Vanda Cunha; Solange Ribeiro Peixoto.
Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos – LNIRTT – FIOCRUZ/IOC

Com o uso de material ilustrativo popular e científico estamos ampliando, para a sociedade, a conscientização a respeito dos insetos responsáveis pela transmissão da doença de Chagas.

O lançamento da quarta edição da coleção de cinco blocos contendo informações sobre as 66 espécies de triatomíneos do Brasil, atesta a receptividade (14.750 blocos editados) e a praticidade em conscientizar e esclarecer aspectos importantes dos barbeiros, bem como fornece aos pesquisadores meios para a identificação desses vetores. Paralelamente, estamos distribuindo gratuitamente o “Atlas Iconográfico dos Triatomíneos do Brasil”, que abrange todas as espécies conhecidas. Através de fotos coloridas e uma chave dicotômica, o Atlas ajuda na identificação dos vetores. Nessa segunda edição, estamos distribuindo nove mil exemplares editados. Nosso alvo tem sido as escolas em todos os níveis, faculdades, bibliotecas e pessoal ligado ao controle de vetores.

Apoio: Ministério da Saúde – CGLab; CNPq ; Fiocruz.

Educação/informação

Resumo 67

Conhecimentos acerca da doença de Chagas por alunos do ensino médio de uma escola particular de ensino em Belo Horizonte, Minas Gerais

Lucas de Esquivel Dias Brandão
Graduando em Ciências Biológicas pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. lucasdesquivel@hotmail.com
Juliana Lacerda Macedo Nascimento
Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ensino em Biociências e Saúde Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ- RJ). julym.bio@hotmail.com
Marcelo Diniz Monteiro de Barros
Professor Adjunto IV do Departamento de Ciências Biológicas da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. marcelodiniz@pucminas.br

Globalmente, a doença de Chagas está associada a 14 mil mortes anuais, constituindo-se na sexta doença tropical de maior importância no mundo. Na América Latina pode ser entendida como uma das mais importantes doenças parasitárias, em que mais de 10 milhões de pessoas são infectadas com o parasito *Trypanosoma cruzi*, e aproximadamente 90 milhões de indivíduos ainda estão sob o risco de contraírem a doença. No Brasil é responsável por cerca de 6 mil mortes anuais (16 por dia). A Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) estima que existam de 2 a 3 milhões de pessoas com a forma crônica no país. Sendo assim, trabalhos sobre o conhecimento da população acerca dessa zoonose são essenciais para verificar como o assunto vem sendo tratado na sociedade atual. No primeiro semestre de 2015 foi realizada uma investigação de cunho descritivo com 21 alunos, da faixa etária de 16 e 17 anos, do 2º ano do Ensino Médio em uma escola particular de ensino, localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais. Através de um questionário semiestruturado, contendo 15 questões, utilizado como instrumento de coleta de dados, almejou-se identificar que conhecimentos esses alunos tinham sobre a Doença de Chagas. Na presente pesquisa 85,71% dos alunos responderam conhecer sobre a Doença de Chagas na escola e apenas 9,52% relataram que esses conhecimentos foram adquiridos através de jornais e noticiários, evidenciando, portanto, que tais meios de comunicação não vigoraram como as principais fontes de obtenção de conhecimentos por parte dos alunos. Registrou-se, ainda, que a maioria dos estudantes não conhecem pessoas que desenvolveram a Doença de Chagas, o que em parte pode comprovar o fato de que a transmissão desta doença encontra-se controlada no Estado de Minas Gerais. Para avaliações futuras julgamos que pesquisas qualitativas sobre a percepção da população sobre o tema contribuiriam enormemente para o planejamento de ações educativas acerca dessa importante zoonose.

Palavras-chave: Pesquisa científica na Educação Básica; Percepção acerca da Doença de Chagas por alunos do Ensino Médio; Doença de Chagas.

Parasito (diversidade genética, molecular, biológica e morfológica)

Resumo 19

(Apresentação Oral Express Communication - 14/04)

Produção de nocautes do gene TcNTPDase-1 em *Trypanosoma cruzi*

Silva-Gomes, NL¹; Porcino, GN²; Rampazzo, RCP⁴; Santos, CMB⁴; Krieger, MA⁴;
Vasconcelos, EG²; Fragoso, SP³; Moreira, OC¹

¹Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas, IOC/FIOCRUZ

²Laboratório de Estrutura e Funções de Proteínas, ICB/UFJF

³Laboratório de Biologia Molecular de Tripanossomatídeos, ICC/FIOCRUZ

⁴Laboratório de Genômica Funcional, ICC/FIOCRUZ

As Nucleosídeo Trifosfato Difosfohidrolases (NTPDases) são enzimas que hidrolisam nucleotídeos tri- e difosfatados, estando envolvidas nos processos de infectividade, virulência e aquisição de purinas por *Trypanosoma cruzi*. Neste trabalho, desenvolvemos e avaliamos a viabilidade do parasita recombinante (hemi-nocaute) para o gene TcNTPDase-1, e confirmamos a estabilidade de deleção de cada alelo deste gene e a sobrevivência dos parasitos. Para isso, as regiões intergênicas *upstream* e *downstream* do gene TcNTPDase-1 foram amplificadas por PCR, e inseridas nos respectivos vetores para nocaute pNEO2 e pHYG2 e transformadas em epimastigotas de *T. cruzi* (clone Dm28c). Assim, os parasitos recombinantes (resistentes aos antibióticos Higromicina e Neomicina, chamados de clones Higo e Neo, respectivamente) foram selecionados e cultivados a 28°C em meio LIT, suplementado com 10% de SFB. A expressão gênica da TcNTPDase-1 nos parasitos silenciados em cada alelo (clones Higo e Neo) foi avaliada através da extração do RNA utilizando o reagente TRIzol®, seguido pela quantificação e tratamento com DNase e síntese do cDNA, utilizando o Kit SuperScript IV. Os ensaios de RT-qPCR foram realizados utilizando TcGAPDH e TcCalmodulina como genes de referência. Para avaliar o nível de tradução da enzima NTPDase, foram realizados ensaios de Western blotting e ELISA, utilizando um soro anti-apirase de batata, que reconhece a NTPDase-1 de *T. cruzi* por interação cruzada. Observamos que os hemi-nocautes Higo e Neo apresentaram um crescimento celular mais lento, quando comparado ao clone selvagem. Além disso, os clones Higo apresentavam uma menor expressão da TcNTPDase-1, enquanto que os clones Neo apresentaram uma maior expressão deste gene, quando comparados ao clone Dm28c selvagem. Esses dados obtidos em nível de RNAm corroboraram como os dados obtidos nos experimentos de Western blotting e ELISA. Até o momento, foi possível observar que os parasitos hemi-nocaute foram viáveis e apresentaram diferentes níveis de expressão do gene NTPDase-1. Em contrapartida, quando *T. cruzi* foi nocauteado em ambos os alelos do gene NTPDase-1 simultaneamente, não foi possível observar sobrevivência do parasito, o que corrobora a importância deste gene para o *T. cruzi*. No momento, estamos avaliando a infectividade e virulência dos parasitos recombinantes, a fim de compreender o papel da NTPDase-1 para *T. cruzi*.

Palavras-Chave: *Trypanosoma cruzi*, NTPDase-1, Doença de Chagas

Patologia / Patogenia

Resumo 70

Alterações vasculares na doença de chagas aguda em modelo experimental murino

Lindice Mitie Nisimura^{1,4}; Elen Mello de Souza²; Liliane Mesquita³; Mirian Cláudia de Pereira³; Eduardo Tibiriçá⁴; Luciana Garzoni¹

¹ Laboratório de Inovações em Terapia, Ensino e Bioprodutos; ² Laboratório de Ultra-estrutura e Morfogênese Viral; ³ Laboratório de Ultra-estrutura Celular; ⁴ Laboratório de Investigação Cardiovascular / IOC- RJ

As alterações microvasculares contribuem para a patogênese da cardiomiopatia chagásica levando a isquemia tecidual e consequentemente a miocitólise que resultam em inflamação e fibrose intersticial progressiva, e consequentemente, diminuição da capacidade contrátil do miocárdio e insuficiência cardíaca. A VE-caderina é uma proteína específica de adesão célula-célula do complexo juncional aderente endotelial. VE-caderina é necessária para integridade da barreira endotelial e para a angiogênese de modo que sua disponibilidade e função são rigorosamente controladas. Nossos dados recentes demonstram que no coração durante a infecção aguda pelo *Trypanosoma cruzi*, existe um aumento dos níveis do fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF) e seu receptor Flk-1, que além de regular o crescimento vascular, regulam também a permeabilidade vascular através de sua ação sobre VE-caderina. Neste contexto, nossa hipótese é que durante a infecção aguda experimental pelo *T. cruzi* ocorre alteração da expressão de VE-caderina. Verificamos através de imunofluorescência e Western blotting, redução desta proteína no 15º dia pós infecção que retornou aos níveis dos controles após 22 dpi. Verificamos ainda através de microscopia eletrônica de transmissão a quebra da integridade juncional em vasos sanguíneos. Podemos concluir com o presente estudo que as alterações em VE-caderina podem contribuir com o aumento do influxo de células inflamatórias para o interstício do miocárdio devido ao aumento da permeabilidade vascular, e desse modo contribuir com o dano cardíaco durante a cardiomiopatia chagásica.

Agências Financiadoras: IOC, POM Fiocruz, CNPq

Quimioterapia (drogas e esquemas de tratamento etiológico)

Resumo 34

Descoberta de novos derivados piridinil-1,3,4-tiadiazólicos com potente ação tripanomicida

Freitas, Rosana H.C.N.¹; Salomão, Kelly²; de CASTRO, Solange L.²; da SILVA, Edson F.³; FRAGA, Carlos, A.M.¹

¹ Laboratório de Avaliação e Substâncias Bioativas (LASSBio), Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

² Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

³ Instituto de Tecnologia em Fármacos e Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

A doença de Chagas (CD), causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, é endêmica em todos os países da América Latina, incluindo o Brasil. O único fármaco disponível para tratar a doença, o benznidazol, não é eficaz e apresenta severos efeitos adversos. Neste cenário, a busca de novos alvos-terapêuticos e novos protótipos é necessário para obtenção de um tratamento eficaz para CD.

A síntese dos derivados piridinil-1,3,4-tiadiazólicos foi iniciada utilizando os ácidos carboxílicos correspondentes como material de partida. Os produtos finais foram obtidos após quatro etapas de uma síntese linear com rendimentos moderados. A ação tripanocida dos derivados foi avaliada através da capacidade dos compostos em lisar células *T. cruzi* na forma tripomastigota. LASSBio-1947 foi o composto mais promissor dessa série, com $CI_{50} = 16,6 \mu M$, enquanto os outros análogos mostraram também CI_{50} na faixa do micromolar.

Portanto, os compostos foram obtidos com rendimentos razoáveis, usando metodologias clássicas e reprodutíveis. Todos os compostos apresentaram ação tripanocida, e LASSBio-1947 foi o mais promissor.

Financiadores: CAPES, CNPq, FAPERJ e INCT-INOVAR

Quimioterapia (drogas e esquemas de tratamento etiológico)

Resumo 50

Síntese e avaliação da atividade tripanocida de novos derivados arilidrazonil-1,2-diariletanona substituídos

Natália N. Santiago^{1,2}(PG); Giulianna Pereira de Alcântara^{1,2}(PG); Samir A. Carvalho¹(PQ), Henrique M. G. Pereira²(PQ); Edson F. da Silva^{1,3} (PQ)*

1 - Fiocruz- Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos Rua Sizenando

Nabuco, 100, Mangueiras, 21041-250 Rio de Janeiro, RJ.

2 – Universidade Federal do Rio de Janeiro; Instituto de Química; Av. Athos da Silveira Ramos, 149, bl. A; CEP:21941-909- Cidade Universitária- Rio de Janeiro, RJ.

3 - Unigranrio – Universidade do Grande Rio; Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – 25 de Agosto – Duque de Caxias; CEP 25071-202 – Rio de Janeiro – RJ.

A doença de Chagas (DCH) é uma importante doença parasitária resultante da infecção promovida pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. De acordo com a Organização Mundial da Saúde existem 16-18 milhões de pessoas infectadas e cerca de 120 milhões de pessoas estão em áreas de risco, com 200 mil novos casos e mais de 14 mil mortos todos os anos na América Latina¹. Os únicos fármacos recomendados, para uso clínico no combate desta doença, são nifurtimox (Nif) e benznidazol (Bz). Em estudos realizados por Andrade e Brener², em 1969, a Nitrofurazona mostrou ampla atividade tripanocida. Mais tarde, em 1988, Henderson e cols. observaram que a Nitrofurazona era eficaz na inibição da tripanotona redutase. Com isto, a descoberta da nitrofurazona abriu novos caminhos na busca de alternativas no combate à DCH. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo a síntese e avaliação biológica de novos derivados arilidrazonil-1,2-diariletanona substituídos. Estes novos derivados foram planejados estruturalmente, explorando o conceito de retroisosterismo funcional da Nitrofurazona. A metodologia sintética aplicada na preparação dos derivados arilidrazonil-1,2-diariletanona substituídos partiu, primeiramente, da reação de hidrólise, em meio ácido, do enolbenzoato, fornecendo o intermediário cetônico em 95% de rendimento. Finalmente, os derivados arilidrazonil-1,2-diariletanona substituídos foram obtidos através da reação de condensação entre o intermediário cetônico e as correspondentes anilinas previamente diazotadas. Os derivados arilidrazonil-1,2-diariletanona substituídos foram caracterizados através de técnicas espectroscópicas, como: IV, EM, RMN ¹H e ¹³C (COSY; HMBC; HSQC). Os resultados obtidos neste trabalho nos permitiram concluir que a metodologia sintética, empregada para obtenção da nova família de derivados arilidrazonil-1,2-diariletanona substituídos, mostrou-se adequada, apresentando rendimentos entre 54-82%. Através da avaliação biológica foi possível identificar o derivado um dos derivados como o mais ativo sobre a forma T. cruzi com IC₅₀= 15µM.

Agradecimentos: Farmanguinhos, Fiocruz, CNPq, Faperj

Quimioterapia (drogas e esquemas de tratamento etiológico)

Resumo 55

(Apresentação Oral Centro de Estudos - 15/04)

Atividade do *m-Terphenyl bis-Arylimidamide* sobre diferentes cepas e formas do *Trypanosoma cruzi*

Guedes da Silva, FH,¹; Da Silva CF¹; Batista, DGJ¹; Meuser, MM¹, Da Silva, PB¹,
Oliveira, GM¹, Patrick, DA²; Jones, SK², Tidwell, R² e Soeiro MNC¹.

Lab. Biologia Celular¹, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.
Departamento de Patologia e Laboratório de Medicina da Universidade da Carolina do
Norte² - Chapel Hill, Carolina do Norte, EUA.

A doença de Chagas causada pelo *Trypanosoma cruzi*, é um relevante problema de saúde pública na América Latina, onde cerca de 10 milhões de pessoas estão infectadas. A terapia atual realizada por Benznidazol (Bz) e Nifurtimox apresenta limitações, como alta toxicidade e baixo efeito na fase crônica tardia da doença. As amidinas aromáticas, tais como pentamidina, têm sido utilizadas na medicina humana e veterinária. As suas principais desvantagens são, a pobre biodisponibilidade e efeitos colaterais adversos. Para superar estas limitações, novos análogos foram sintetizados. As diamidinas e análogos como arylimidamides (AIAS) apresentam considerável atividade contra uma grande diversidade de patógenos. O nosso estudo se concentrou na análise do *m-terfenil bis-arylimidamide* (35DAP073) contra tripomastigotas sanguíneos e formas intracelulares de *T. cruzi* avaliando diferentes cepas em estudos *in vitro* e *in vivo*. O composto 35DAP073 foi muito ativo contra as formas tripomastigotas, conduzindo a valores de IC50 de $0,5 \pm 0,3 \mu\text{M}$ e $4 \pm 2,8 \mu\text{M}$ para as cepas Y e Colombiana, respectivamente, após 24 h de incubação a 37° C, sendo mais eficaz em relação ao Bz ($13 \pm 2 \mu\text{M}$). A análise sobre as formas intracelulares (cepa Tulahuen), confirmaram a alta atividade, mostrando, após 48 h de tratamento, valores de IC50 de $0,04 \pm 0,005 \text{ mM}$, sendo cerca de 100 vezes mais ativo do que Bz (IC50 = $4,4 \pm 0,8 \text{ mM}$). Os estudos *in vivo* foram realizados com camundongos Swiss machos infectados com 10^4 formas tripomastigotas sanguíneas da cepa Y e tratados ou não com diferentes doses (20 - 5mg/kg por dia), no 5^o e 8^o dia pós-infecção (dpi). 35DAP073 apresentou resposta dependente da dose, conduzindo a 96, 87 e 46 % de redução da parasitemia de 20, 10 e 5mpk, respectivamente, enquanto que os animais tratados com 100mg/kg/dia de Bz mostraram 99,8 % de supressão da parasitemia. Ambos as doses (5 e 10 mpk), apresentaram 100% de sobrevivência dos animais, resultado similar ao tratamento com Bz. Os nossos resultados sustentam as investigações desta classe de compostos para o desenho e a identificação de novas alternativas para a quimioterapia da doença de Chagas.

Apoiado: CAPES, CNPq, FAPERJ, University of North Carolina, CPDD and FIOCRUZ

Quimioterapia (drogas e esquemas de tratamento etiológico)

Resumo 68

(Apresentação Oral Express Communication - 14/04)

Efeito do tratamento com lovastatina sobre a recuperação da microcirculação cerebral durante a doença de Chagas aguda em modelo murino

Beatriz Matheus de Souza Gonzaga¹; LÍndice Mitie Nisimura¹; Fabiana Gomes²; Vanessa Estato de Freitas²; Isabele Barbieri³; Patricia A. Reis⁴; Hugo C. Castro-Faria-Neto⁴; Eduardo Tibiriçá²; Luciana Ribeiro Garzoni¹

¹Laboratório de Inovações em Terapia, Ensino e Bioprodutos, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; ²Laboratório de Investigação Cardiovascular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; ³ Programa de Epidemiologia e Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Unidade II – Brasília, Brasil; ⁴ Laboratório de Imunofarmacologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

Alterações do sistema nervoso central ocorrem na doença de Chagas (DC) tanto em modelos experimentais como em humanos podendo levar a meningoencefalite, acidente vascular cerebral e dano cognitivo. Alterações microvasculares estão relacionadas a patogênese da cardiomiopatia na doença de Chagas, porém pouco se sabe sobre o papel da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* sobre a microcirculação cerebral. Recentemente nosso grupo demonstrou que a infecção aguda pelo *T. cruzi* (cepa Y) causa importante microvasculopatia cerebral em camundongos Swiss Webster através da indução de disfunção endotelial, rarefação capilar funcional e aumento de rolling e adesão de leucócitos. As estatinas possuem diversos efeitos pleiotrópicos como: ação anti-inflamatória, melhora da função endotelial, entre outros. Além disso, estatinas apresentam ação tripanocida e trabalhos do nosso grupo demonstraram que a lovastatina reverteu os danos funcionais da microcirculação cerebral em modelo murino de malária e sepse. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo é avaliar o efeito do tratamento com lovastatina sobre a microcirculação cerebral, em modelo experimental da DC aguda. Camundongos machos Swiss Webster inoculados intraperitonealmente com 10^4 formas tripomastigotas do *T. cruzi* (cepa Y) foram tratados a partir de 24h de infecção com 20mg/Kg/dia de lovastatina via oral. Foram analisados os parâmetros parasitológicos e clínicos e a expressão de ICAM-1 e VCAM-1 através de Western blotting. A análise funcional da microcirculação cerebral foi feita através de microscopia intravital e Laser Speckel. Nossos resultados preliminares demonstram que, no nosso modelo de estudo, o tecido cerebral apresenta ninhos de parasitas no 15° e 22° dpi e nódulos de resolução no 22° dpi demonstrando que o parasita é capaz de invadir o sistema nervoso central e que células inflamatórias atuam na tentativa de eliminar a infecção no tecido cerebral. O tratamento com lovastatina não foi capaz de alterar a parasitemia, o peso e a mortalidade dos animais e nem de reverter o aumento na expressão de moléculas de adesão de endotélio vascular (VCAM-1 e ICAM-1), aumentadas durante a infecção. No entanto, o tratamento foi capaz de reverter a rarefação capilar funcional e o aumento de rolling e adesão de leucócitos observados no 15° dpi.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq, CAPES, Fiocruz

Realização

IOC
Instituto Oswaldo Cruz

Ministério da Saúde
FIORUZ
Fundação Oswaldo Cruz

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

Quimioterapia (drogas e esquemas de tratamento etiológico)

Resumo 75

(Apresentação Oral Express Communication - 14/04)

Desenvolvimento de Novos 1,2,4-triazóis como Inibidores de *Trypanosoma cruzi*

Frederico S. Castelo Branco;^{1,2*} Cheyene A. Celestino;² Rodolfo R. F. França;^{1,2}
Policarpo A. Sales Junior;³ Juliana M. C. Barbosa;⁴ Kelly Salomão;⁴ Silvane M. F.
Murta;³ Álvaro J. Romanha;³ Angelo C. Pinto;¹ Núbia Boechat²

¹ FIOCRUZ, Farmanguinhos, Dep. de Síntese de Fármacos, Lab. de Síntese 1. ² UFRJ, I.Q., Lab. de Produtos Naturais e Transformações Químicas. ³ FIOCRUZ, CPqRR, Lab. de Parasitologia Celular e Molecular. ⁴ FIOCRUZ, IOC, Lab. de Biologia Celular.

A doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi* (Tc), afeta entre 6-7 milhões de pessoas no mundo. A quimioterapia para esta doença não é satisfatória, uma vez que os dois únicos fármacos utilizados para o tratamento, nifurtimox e benzonidazol (BZD) apresentam inúmeros efeitos adversos e eficácia bastante limitada na fase crônica tardia da doença. Estudos sobre inibidores da biossíntese de ergosterol (IBE) que atuam na enzima CYP51, tais como o fluconazol (FCZ), ravuconazol e posaconazol (PCZ) têm apresentado resultados bastante relevantes, em especial os que envolveram o PCZ, fármaco este que apresenta o núcleo 1,2,4-triazol. PCZ foi capaz de promover a cura de animais infectados nas fases aguda e crônica, mas recentemente os resultados mostraram falha nos testes clínicos. Uma hipótese é que a baixa biodisponibilidade oral do PCZ em humanos tenha comprometido a sua eficácia, o que pode ser explicado pela sua violação à regra dos 5 de Lipinski. Além disso, o custo sintético para o PCZ é bastante elevado, comprometendo a sua utilização para uma doença negligência. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de 17 novos 1,2,4-triazóis que mantenham o farmacóforo dos IBEs porém que apresentem baixo custo e parâmetros farmacocinéticos otimizados, visando boa biodisponibilidade oral e volume de distribuição. A síntese dos derivados envolveu apenas 4 etapas, sendo todas obtidas com bons rendimentos. Foram realizados ensaios *in vitro* sobre células L929 infectadas com *T. cruzi* cepa Tulahuen, observando alta seletividade dos novos derivados para o parasito, sendo ainda mais ativos que o fármaco antichagásico de referência BZD, alguns apresentando IC₅₀ na escala de nanomolar. Testes *in vitro* contra tripomastigotas e amastigotas intracelulares da cepa Y mostraram menor susceptibilidade do parasito a estas substâncias. Três desses compostos foram avaliados *in vivo* e dois foram tão eficazes quanto o BZD, com relação a redução da parasitemia, sendo que um promoveu maior sobrevida aos animais. No entanto, essas substâncias não foram capazes de promover cura parasitológica dos animais infectados. Desta forma, esses derivados são considerados protótipos e novas modificações estruturais serão realizadas, com o uso de diferentes estratégias, com o objetivo de obter substâncias mais eficazes no modelo *in vivo*.

Terapias (imunoterapia, terapia celular e outras)

Resumo 44A

(Apresentação Oral Express Communication - 14/04)

Beneficial effect of Benznidazole and Fluoxetine in depressive-like behavior in experimental chronic *Trypanosoma cruzi* infection

Vilar-Pereira, G.¹; Ruivo, L.A.S.¹; Silva, A.A.², Lannes-Vieira, J.¹

1 Laboratório de Biologia das Interações, Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, Brasil.

2 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, UFF, Rua Marquês do Paraná, 303, Centro, Niterói, RJ, Brasil.

Carlos Chagas described neurological disorders, learning and behavioral changes since the discovery of the American Trypanosomiasis, later named Chagas disease (CD). The chagasic patients have behavioral changes such as psychomotor, attention, memory disturbs and depression. These alterations may be consequences of parasite presence in the central nervous system. Previously, we have shown that chronically *Trypanosoma cruzi*-infected mice present behavioral abnormalities akin CD patients. Indeed, mice chronically (120 days post-infection, dpi) infected with the Colombian strain of *T. cruzi* exhibit behavioral changes as (i) anxiety, (ii) motor coordination and (iii) depressive-like behavior. Aiming to understand the pathophysiology of chronic behavioral changes in CD, we initially approached (i) the participation of the reuptake of serotonin, using fluoxetine (Fx), and (ii) the participation of the parasite, using the trypanocidal drug benznidazole (Bz), chronically infected mice (at 120 dpi) were treated for 30 consecutive days. Fx therapy improved depressive-like behavior as reduced the time of immobility in the tail suspension test (TST), supporting that serotonin reuptake pathway is involved in this process. The therapy with suboptimal dose of Bz (25 mg/Kg/day) in the chronic phase (120 to 150 dpi) also reduced the immobility time in TST. More than hampering progression, Bz therapy reversed depressive-like behavior in the chronic infection. These results indicate that, in addition to the neurochemical component serotonin, the parasite and/or its components and/or the parasite-driven-immunological abnormalities take part in the pathogenesis of behavioral changes in experimental chronic DC. Thus, we support that behavioral changes in DC are not restricted to psychological factors, but can reside in a complex network of interactions triggered by the parasite *T. cruzi*.

Keywords: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, behavioral alterations, depression, anxiety

Financial support: FAPERJ, INCTV/CNPq, CAPES.

Terapias (imunoterapia, terapia celular e outras)

Resumo 106

Terapia em dose fixa combinada: etapas do desenvolvimento tecnológico de novos medicamentos para o tratamento da Doença de Chagas

Alessandra Lifritch Viçosa¹; Deise Cristina Drummond Xavier Lopes¹; Caroline da Silva Pereira¹; Marcos André Vannier dos Santos²

¹Laboratório de Farmacotécnica Experimental, Farmanguinhos, Fiocruz - RJ;

²Programa de Pesquisa Translacional em Doença de Chagas, Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Fiocruz – BA.

A Organização Mundial da Saúde classifica a Doença de Chagas como uma doença negligenciada sem tratamento eficaz disponível. O benznidazol (BNZ) é o fármaco ainda recomendado para o tratamento desta doença e sabidamente capaz de provocar efeitos colaterais importantes além de problemas quanto suas características físico-químicas (solubilidade, fotoestabilidade). A fim de melhorar o tratamento, formulações na forma de dose fixa combinada estão em plena ascensão em programas de acesso do Ministério da Saúde. O termo dose fixa combinada (DFC) refere-se à associação de classes variadas de fármacos em diversas combinações e em uma única forma farmacêutica. Dentre as vantagens de se desenvolver uma associação estão: baixo custo, eficácia e tolerabilidade similares a outros esquemas terapêuticos, melhor adesão ao tratamento e menor número de unidades farmacêuticas administradas. Observa-se, também, melhora da atividade tripanossomicida das formulações associadas possivelmente em função da ação sinérgica dos fármacos melhorando as propriedades farmacocinéticas e biofarmacêuticas destas novas formulações. O objetivo deste trabalho é o planejamento das etapas de desenvolvimento tecnológico de uma nova formulação em dose fixa combinada a base de BZN. A partir do levantamento bibliográfico em bases de dados científicas e expertise do corpo técnico envolvido delineou-se as seguintes etapas de desenvolvimento: Pré-formulação, estudos de compatibilidade fármaco – fármaco e fármaco-excipiente, estudos de formulação e processo, alternativas de acondicionamento, estudos de estabilidade e avaliação da qualidade e eficácia dos produtos gerados. O Laboratório de Farmacotécnica Experimental da Fiocruz vêm contribuindo para a pesquisa e o desenvolvimento de sistemas de liberação à base de benznidazol, com o fim de ampliar as alternativas terapêuticas para o combate à doença de Chagas e disponibilizar para o Sistema Único de Saúde medicamentos mais eficazes, seguros, inovadores e adequados ao tratamento da doença.

Vetor, ciclos de transmissão, ecologia e biodiversidade

Resumo 20

(Apresentação Oral Centro de Estudos - 15/04)

Diagnóstico molecular e quantificação da carga parasitária de triatomíneos infectados por *Trypanosoma cruzi*

*Finamore, P.¹; Vieira, C.S.²; Britto, C.¹; Azambuja, P.²; Moreira, O.C.¹.

1 Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas – IOC/FIOCRUZ

2 Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos – IOC/FIOCRUZ

A doença de Chagas constitui a quarta mais importante doença tropical, suplantada somente pela malária, tuberculose e esquistossomose. A análise por microscopia é o método clássico para descrição de infecção natural de triatomíneos por *Trypanosoma cruzi* e apresenta limitações como baixa sensibilidade e reprodutibilidade, dificuldade de exame nos diferentes estágios evolutivos dos vetores, necessidade da análise em insetos frescos, além de ser um procedimento extremamente laborioso. Nesse contexto, a utilização da PCR em Tempo Real (qPCR) no diagnóstico de *T. cruzi* apresenta várias vantagens, como maior sensibilidade, rapidez e reprodutibilidade, possibilitando investigar o desenvolvimento do parasito no inseto vetor. Neste trabalho, foi desenvolvido um ensaio multiplex de qPCR pelo sistema TaqMan com alvos para o gene correspondente à região 12S do RNA ribossomal de triatomíneos e para o DNA nuclear satélite de *T. cruzi*, capaz de estimar a carga parasitária em amostras de insetos positivas para infecção por *T. cruzi*. Além disso, padronizamos uma RT-qPCR, com alvo para o gene *T. cruzi* GAPDH, capaz de quantificar apenas parasitos viáveis em amostras de triatomíneos. A reação de qPCR multiplex apresentou uma detecção linear para *T. cruzi* na faixa de 10^5 a 0,5 equivalentes de parasitos e para triatomíneo na faixa de 3 a $1,5 \times 10^{-4}$ equivalentes de triatomíneo. Foi possível determinar também um Limite de Detecção em 0,41 eq. Parasitos. Para validação deste ensaio, 13 amostras de triatomíneos coletados em campo, positivas para infecção por *T. cruzi*, foram quantificadas e apresentaram cargas que variaram de 10^2 a 10^{11} eq. parasito/eq. triatomíneo. Posteriormente, para acompanhar o desenvolvimento do *T. cruzi* (Dm28c) ao longo do trato digestivo de *Rhodnius prolixus*, RNA e DNA total foram extraídos de insetos em diferentes períodos após a alimentação com sangue contendo *T. cruzi*, onde foi possível observar que, a partir de 9 dias pós-alimentação dos insetos, ocorre uma diminuição da quantidade de parasitos viáveis (detectados por RNAm), o que não é acompanhado pela diminuição da quantidade de parasitos totais (detectados por DNA). Os ensaios de qPCR e RT-qPCR desenvolvidos neste estudo irão contribuir para determinar a taxa de infecção de triatomíneos silvestres além de contribuir para a compreensão da competência vetorial de triatomíneos e a incidência da doença de Chagas.

Palavras chave: Doença de Chagas, *Rhodnius prolixus*, qPCR, RT-qPCR

FIOCRUZ, CNPq, Faperj

Vetor, ciclos de transmissão, ecologia e biodiversidade

Resumo 94

(Apresentação Oral Centro de Estudos - 15/04)

Influência da infecção por diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* na expressão gênica de peptídeos antimicrobianos e microbiota intestinal de *Rhodnius prolixus*

Cecília Stahl Vieira ^a, Peter Josef Waniek^a, Daniele Pereira de Castro^a, Débora Passos de Mattos ^b, Otacílio da Cruz Moreira^d, Patrícia Azambuja ^a

^aLaboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

^bLaboratório de Biologia de Insetos, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brazil.

^dLaboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Rhodnius prolixus é um dos insetos vetores de *Trypanosoma cruzi*, o agente causador da doença de Chagas na América Latina. Em habitats naturais, esses insetos estão em contato com uma variedade de microrganismos que podem ser adquiridos do ambiente ou ainda do sangue de seus hospedeiros vertebrados. A ingestão de microrganismos desencadeia a síntese de fatores da imunidade humoral do inseto, como os peptídeos antimicrobianos (AMPs). O presente trabalho teve como objetivo a comparação dos níveis de expressão de diferentes AMPs (defensinas e prolixicina) no intestino médio e corpo gorduroso de *R. prolixus* infectados com cepas de *T. cruzi*, pertencentes a diferentes genótipos. Enquanto *T. cruzi* Dm 28c (TcI) se desenvolve com sucesso no intestino de *R. prolixus*, a cepa Y (TcII) não. A influência das infecções pelas duas cepas do parasita sobre a atividade antibacteriana nos diferentes tecidos e sobre a microbiota intestinal também foi analisada. Confirmamos a infecção através da visualização de parasitas em amostras do trato digestivo do inseto. Os genes de AMPs foram quantificados pela técnica de PCR em tempo real. Em amostras de hemolinfa e intestino médio de insetos infectados, mediu-se indiretamente a atividade antibacteriana dos AMPs contra diferentes bactérias, através de ensaios turbidimétricos. Análises das bactérias que compõem a microbiota do inseto bactérias foram realizadas através da quantificação de unidades formadoras de colônia (CFU) e por PCR em tempo real. Nossos resultados mostraram que a infecção pelas duas cepas de *T. cruzi* ativam de forma distinta a imunidade local de *R. prolixus*, em resposta ao contato direto com o parasita no intestino médio. Insetos infectados por *T. cruzi* Dm 28c exibiram um aumento na expressão de defensina C e de prolixicina enquanto que, simultaneamente foi observada uma redução na população bacteriana intestinal, em comparação a insetos controle. Em contraste, a infecção pela cepa Y não induziu a expressão de AMP nem reduziu o número de bactérias cultiváveis no intestino médio. Além da indução de uma resposta imune local, pudemos detectar simultaneamente a ativação de uma resposta imune sistêmica na cavidade geral do inseto, induzida pela infecção por ambas as cepas de *T. cruzi*, com aumento da atividade antibacteriana na hemolinfa e aumento da expressão gênica de AMPs no corpo gorduroso. Em conclusão, a expressão e atividade dos AMPs, bem como a microbiota bacteriana de *R. prolixus* são diferencialmente moduladas, dependente do genótipo de *T. cruzi* utilizado para a infecção.

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) (PROEP).

Realização

IOC
Instituto Oswaldo Cruz

Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

Vetor, ciclos de transmissão, ecologia e biodiversidade

Resumo 37

Descrição de ninfas de primeiro estágio de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae)

Martins, T.S.; Moreira, F.F.F. & Dale, C.

Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Instituto Oswaldo Cruz, 21040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Triatominae é composta por cinco tribos, 18 gêneros e 146 espécies. Apresenta ampla distribuição na região Neotropical, e seus representantes são potenciais vetores da doença de Chagas. Apesar da importância médica, as ninfas de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard) nunca tiveram uma descrição completa na literatura, apenas estudos morfológicos parciais. Tal espécie faz parte do "subcomplexo *rubrovaria*", juntamente com *T. carcavallo* Jurberg, Rocha & Lent, *T. circummaculata* (Stål), *T. klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, *T. limai* Del Ponte e *T. oliveirai* (Neiva, Pinto & Lent). Considerando a semelhança morfológica entre os adultos de tais espécies, a busca por características morfológicas relevantes nas ninfas de estádios I a V é de grande importância, pois pode colaborar para solucionar questões de caráter filogenético e/ou evolutivo envolvendo *T. rubrovaria* e as outras espécies do subcomplexo. Além disso, a descrição detalhada das ninfas pode tornar possível a identificação de material composto exclusivamente por imaturos. O estudo incluiu cinco ninfas de 1º estágio provenientes do insetário do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, as quais foram medidas e observadas com auxílio de estereomicroscópio. Dentre suas principais características estão: comprimento total do corpo de 3,21-3,36 mm; coloração geral castanho clara ou castanho avermelhada; antenas castanho claras, exceto peças interarticulares e maior parte do antenômero IV amarelados; rostro com todos os segmentos castanho claros, amarelados nos artículos II-III; pernas castanhas, podendo ser mais claras na coxa, trocânter, base do fêmur e tarsos; pro-, meso-, metanoto e pigídio castanho escuros ou avermelhados; esternitos abdominais II-VII castanho avermelhados; cabeça e tórax com tubérculos setíferos laterais; corpo com cerdas decumbentes inseridas em tubérculos, mais numerosas no dorso do abdome; porção posterior do antecíleo sem tubérculos setíferos; búcula com 1+1 tubérculos subapicais bem projetados e laterais; tubérculos anteníferos com 2+2 tubérculos setíferos laterais; antenômero I com aproximadamente 5 a 8 cerdas; II com sete fileiras longitudinais de 18 a 22 cerdas decumbentes; III com quatro fileiras de 18 a 22 cerdas decumbentes; IV coberto por cerdas em toda a porção mais clara, com duas cerdas longas laterais e duas fileiras de 8 a 12 cerdas decumbentes; tórax com tubérculos setíferos laterais; pronoto trapezoidal, dividido pela linha ecdisial em um par de placas com margens laterais declinadas, cada uma com uma depressão oblíqua lisa; tubérculos discal e lateral não desenvolvidos; meso- e metanoto trapezoidais, divididos pela linha ecdisial; proepisterno com sulco elíptico raso, com estrias transversais.

Financiador: PIBIC/CNPq

Vetor, ciclos de transmissão, ecologia e biodiversidade

Resumo 96*

Avaliação de taxas de infecção, carga parasitária e tipagem molecular de *Trypanosoma cruzi* em triatomíneos naturalmente infectados em dois biomas brasileiros (Caatinga e Pampa) através do uso de ensaios moleculares baseados na PCR

Thaiane Verly¹, Nathanielly Rocha², Margareth Almeida², Danielle Misael², Cleonara Bedin³,
Natalia Beline¹, Otacílio Moreira¹, Jacenir Mallet², Constança Britto¹

¹Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz;

²Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemíptera - Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz; ³Divisão de Vigilância Ambiental em Saúde - Centro Estadual de Vigilância em Saúde – Rio Grande do Sul

Embora o Brasil mantenha constante a operação de vigilância e controle dos principais vetores da doença de Chagas, o risco de infecção por *Trypanosoma cruzi* ainda persiste. Estimativas de taxas de infecção natural por *T. cruzi*, em triatomíneos, são importantes para avaliar possíveis riscos de transmissão vetorial. Neste estudo, a técnica de PCR *multiplex*, por apresentar maior sensibilidade, rapidez e reprodutibilidade, comparada à observação microscópica direta do parasito, foi utilizada para a detecção simultânea do kDNA de *T. cruzi* e da subunidade 12S do gene ribossomal de triatomíneos. Ensaios de qPCR para a quantificação absoluta do parasito pelo sistema TaqMan *multiplex* direcionado para o mesmo alvo em triatomíneos e para o DNA nuclear satélite de *T. cruzi*, também foram realizados. A caracterização molecular do parasito foi conduzida a partir de adaptações dos algoritmos de PCR preconizados previamente. A PCR demonstrou sensibilidade superior à microscopia óptica para o diagnóstico de triatomíneos de campo. No Ceará o percentual de positividade para *T. cruzi*, por PCR, foi maior em *Panstrongylus lutzi* (85,7%), seguido de *Triatoma brasiliensis* (18,3%) e *Triatoma pseudomaculata* (12,2%). As maiores cargas parasitárias observadas foram em *T. pseudomaculata* e *T. brasiliensis* ($9,1 \times 10^7$ e $1,9 \times 10^7$ eq. par., respectivamente), e a menor em *P. lutzi* ($1,2 \times 10^2$ eq. par.). O genótipo TcI foi detectado em *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* e *P. lutzi*; e as DTUs TcV, TcII e TcVI em *T. brasiliensis*. Coinfecções por TcIII+V e TcI+II/V/VI foram observadas em *P. lutzi* e em *T. brasiliensis*, respectivamente. Espécimes de *T. brasiliensis* infectados com TcII e TcVI apresentaram cargas parasitárias mais elevadas ($1,8 \times 10^7$ e $1,9 \times 10^7$ eq. par., respectivamente). No Rio Grande do Sul a taxa de infecção natural foi superior em *Triatoma rubrovaria* (50%), seguido de *Triatoma circummaculata* (33,3%), *Triatoma infestans* (8,1%) e *Triatoma carcavalloii* (6,1%). Entre os espécimes não identificados taxonomicamente (NI), 4,8% foram positivos para *T. cruzi*. A maior carga parasitária foi observada em *T. rubrovaria* (3×10^7 eq. par.) e as mais baixas em NI e *T. infestans* ($1,5 \times 10^1$ e $2,1 \times 10^1$ eq. par., respectivamente). TcI foi encontrada em *T. rubrovaria*, *T. infestans* e em NI. *T. circummaculata* apresentou coinfecção por TcI+IV. O presente estudo confirmou a fidedignidade das técnicas moleculares empregadas para a avaliação de triatomíneos naturalmente infectados por *T. cruzi*, corroborando o complexo ciclo de transmissão do agente etiológico da doença de Chagas no Brasil.

Financiadores: FAPERJ – Doenças Emergentes e Negligenciadas, PROEP/CNPq.

***Pedimos desculpas ao grupo pela não inclusão deste resumo no sistema de avaliação, por motivos alheios à organização do evento.**

Vetor, ciclos de transmissão, ecologia e biodiversidade

Resumo 99

Investigação de fatores associados à infestação de triatomíneos, vetores da doença de Chagas em localidades rurais no município de Russas, Ceará, Brasil

Antonia de Castro Ribeiro¹, Filipe Anibal Carvalho-Costa¹, Marli Maria Lima¹

¹Laboratório de Ecoepidemiologia de doença de Chagas-LEDOC

Introdução: A doença de Chagas é endêmica na região do Vale do Rio Jaguaribe, no Ceará, por apresentar tanto ciclo doméstico quanto paradoméstico de *Trypanosoma cruzi*, além de infecções em animais sinantrópicos e domésticos e casos humanos. As zonas rurais da região apresentam altos índices de infestação por triatomíneos, quase sempre portando a infecção natural por *T. cruzi*. Nesta pesquisa, com o intuito de ampliar a investigação da endemia na região, através de indicadores entomológicos e técnicas de geoprocessamento investigamos, durante 30 dias, no período de seca, seis localidades rurais próximas umas das outras, porém, distantes do centro urbano. Resultados: A maioria das casas era de alvenaria, com reboco, porém em mal estado de conservação, e o meio ambiente bastante degradado. Casas de taipa ou mistas (taipa e tijolos) representavam aproximadamente 30%. Informações da Secretaria de Saúde de Russas indicaram que a maioria das localidades não era borrifada havia pelo menos três anos. No período investigado, capturamos 374 triatomíneos, sendo a maioria da espécie *Triatoma brasiliensis*, seguida por *T. pseudomaculata* e *Rhodnius nasutus*, de todos os estágios evolutivos, como tem sido observado na região onde essas espécies são recorrentes e cada vez mais associadas aos ambientes domiciliares. As infestações ocorreram no peridomicílio (em poleiros, amontoados de madeiras, currais de ovelhas/cabras, galinheiros, amontoados de telhas e casa de taipa abandonada); em apenas um domicílio foi encontrado triatomíneo dentro da casa. A análise do conteúdo intestinal dos triatomíneos, por microscopia óptica, não detectou a presença de protozoários semelhantes a *T. cruzi*, no entanto, a técnica de PCR, pela análise de kDNA, indicou que 10,85% dos vetores apresentavam positividade para *T. cruzi*. A análise do gene miniexon revelou que 4,65% deles eram *T. cruzi I*, ou seja, cepa silvestre. Pelos indicadores entomológicos, verificamos que duas localidades (Patos do Tito e Sítio Maxixe) apresentaram os maiores índices de infestação e colonização domiciliar, porém a densidade triatomínica domiciliar foi maior em apenas uma (Patos do Tito). Em duas das localidades (Bonhu e Timbaúba do Pitingão), nas quais em uma prevalecia casas de taipa (Timbaúba do Pitingão), não encontramos nenhum triatomíneo. Conclusão: Os achados deste estudo, embora restritos em alguns aspectos, oferecem contribuições para a pesquisa da endemia nas localidades investigadas e podem ser utilizados por autoridades locais para o planejamento de ações e medidas de controle de triatomíneos para cada uma onde ocorrem triatomíneos.

Apoio: CAPES, IOC, FIOCRUZ.

Vetor, ciclos de transmissão, ecologia e biodiversidade

Resumo 100

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE TRIATOMÍNEOS INFECTADOS POR *Trypanosoma cruzi*

Paula Finamore Araujo¹; Thaiane de Sousa Verly^{1,2}; Otacilio da Cruz Moreira¹; Suzete G. Araújo²; Jacenir Mallet³; Catarina Lopes³; Constança Britto¹.

¹ Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas – Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ- Rio de Janeiro – Brasil

² Laboratório de Biodiversidade de Parasitas e Vetores, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil

³ Laboratório de Transmissores de Leishmanioses - Setor de Entomologia Médica e Forense. Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ- Rio de Janeiro – Brasil

A doença de Chagas constitui a quarta mais importante doença tropical, suplantada somente pela malária, tuberculose e esquistossomose. Sendo assim, a determinação da taxa de infecção por *Trypanosoma cruzi* nos vetores triatomíneos coletados em regiões do Brasil com diferentes índices de endemidade é relevante para o melhor conhecimento acerca da epidemiologia da doença de Chagas, contribuindo para a elaboração de programas de controle da disseminação desta doença. O método clássico para descrição de infecção natural de triatomíneos por *T. cruzi* – o exame microscópico – apresenta baixa sensibilidade, baixa reprodutibilidade, dificuldade de exame nos diferentes estágios evolutivos dos insetos vetores, necessidade da análise em insetos frescos, além de ser um procedimento extremamente laborioso e demorado. Neste contexto, a utilização de métodos moleculares baseados em PCR permite a detecção acurada de *T. cruzi* em variadas amostras, como tecidos e fezes de triatomíneos, com elevada sensibilidade e especificidade, tornando viável a elaboração de uma metodologia para avaliar a carga parasitária em triatomíneos infectados com *T. cruzi*. No presente estudo, foram analisados 165 insetos triatomíneos e, após coleta e identificação taxonômica, cada triatomíneo foi dissecado e as amostras de intestino obtidas foram submetidas à extração de DNA genômico utilizando o kit QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN). Foi, então, desenvolvida uma PCR *multiplex* utilizando iniciadores para o alvo kDNA de *T. cruzi* (*primers* 121 e 122) e para o gene correspondente à região 12S do RNA ribossomal de triatomíneos. Dentre os triatomíneos coletados, 17 foram positivos para infecção por *T. cruzi* (10,3%), sendo eles dos gêneros *Triatoma* e *Panstrongylus*, coletados no Ceará, Tocantins, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro. Para estimar a carga parasitária nas amostras de insetos que foram positivas na PCR convencional, estamos padronizando o ensaio de PCR em Tempo Real pelo sistema TaqMan em *multiplex* utilizando iniciadores com alvos para o gene correspondente à região 12S do RNA ribossomal de triatomíneos e para o DNA nuclear satélite de *T. cruzi*. Foi observada uma linearidade para a quantificação de *T. cruzi* na faixa de 10⁵ a 0,5 equivalentes de parasito/mL. Com este estudo esperamos aprimorar o método diagnóstico das infecções naturais de triatomíneos no Brasil, contribuindo de forma significativa para uma vigilância epidemiológica mais eficaz dos insetos vetores.

Vetor, ciclos de transmissão, ecologia e biodiversidade

Resumo 104

(Apresentação Oral Express Communication - 14/04)

Glicosidases digestivas de *Rhodnius prolixus* e sua participação na digestão

Gerson Profeta de Souza; Fernando Ariel Genta
LABFISI/IOC - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

A Doença de Chagas é uma doença endêmica no Brasil, onde diversos biomas ainda são favoráveis à instalação de vetores. O protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da Doença de Chagas, é naturalmente transmitido pelas fezes de triatomíneos, conhecidos popularmente como barbeiros. Dentre as mais de cem espécies de triatomíneos descritas, a espécie *Rhodnius prolixus* merece destaque por tratar-se do modelo utilizado em estudos fisiológicos de interação parasita-vetor. As glicosídeo hidrolases (GHs) são enzimas responsáveis por realizar a hidrólise de ligações glicosídicas, e podem desempenhar papel importante na digestão de açúcares do sangue, bem como na interação entre o parasita e o sistema digestório do triatomíneo. O perfil de atividade e o padrão de expressão das GHs α e β -Glicosidase, α -Manosidase, N-acetil hexosaminidase, β -Galactosidase e α -Fucosidase foi caracterizado em diferentes tecidos digestivos do inseto (glândula salivar, intestino médio anterior, intestino médio posterior e intestino posterior) ao longo da digestão, empregando insetos machos adultos, em diferentes dias após a alimentação. A expressão dos genes foi monitorada por RT-PCR e RT-qPCR, tendo GAPDH, 18S e Tubulina como genes constitutivos. Foram observados padrões distintos de atividade enzimática nos diferentes compartimentos estudados. A α -Glicosidase mostrou maior atividade no intestino médio anterior seguido pelo intestino médio posterior. Na glândula salivar a maior atividade enzimática encontrada pode ser atribuída à β -Glicosidase, no intestino posterior α -Fucosidase e α -Glicosidase mostraram-se mais ativas em jejum, assim como α -Manosidase no conteúdo do intestino médio anterior. Análise temporal mostrou a variação das atividades ao longo da digestão, a maioria dos tecidos com pico máximo de atividade no 5º, 7º ou 9º dia após alimentação. Estudos de expressão gênica revelaram que alguns genes são expressos de forma constitutiva nos compartimentos estudados, conforme apresentado por RPRC007504. Os genes de β -Galactosidase RPRC011517, RPRC011537 são preferencialmente expressos no intestino médio posterior, e estes dados são coerentes com a alta atividade desta enzima neste compartimento. Os genes de N-acetil hexosaminidase RPRC009566, α -Manosidase RPRC007185 e β -Glicosidase RPRC009530 e RPRC015451 parecem não serem expressos no tubo digestivo de *Rhodnius prolixus*. O estudo dessas glicosidases nos auxilia a entender o que ocorre no interior do aparelho digestivo do inseto ao longo de sua digestão, fornecendo informações importantes para compreensão de novos aspectos de interação entre *Trypanosoma cruzi* e seus vetores, além de contribuir para compreensão de sua eficiência como vetor da doença de Chagas.

Financiadores: CAPES, CNPq, FAPERJ

Vetor, ciclos de transmissão, ecologia e biodiversidade

Resumo 105

Varredura da microbiota de Triatomíneos de campo em busca de atividade anti-*Trypanosoma cruzi*

Joana Afonso Lima de Oliveira

Laboratório de Epidemiologia e Sistemática Molecular / IOC

Os triatomíneos são insetos vetores da doença de Chagas causada pelo *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado que infecta diversos mamíferos, dentre eles o homem. De acordo com a Organização Mundial de saúde, no Brasil aproximadamente três milhões de indivíduos estão infectados com a Doença de Chagas e, 6,4% da população brasileira infectada, contraiu a doença por transmissão vetorial. Desta fatia da população 1,7% dos casos concentra-se no centro-oeste brasileiro, onde de acordo com dados de registros de capturas de triatomíneos do Ministério da saúde, foi encontrado com maior abundância o *Triatoma sordida*. Com base nos estudos que comprovam que a microbiota intestinal de insetos pode modular a infecção por parasitos e vírus nós consideramos importante analisar as bactérias presentes nos três segmentos intestinais do *T. sordida* de campo em todos os seus estágios de desenvolvimento, além dos ovos, através de metagenômica e técnicas de cultivo em laboratório. Observamos que as Actinobactérias são as mais abundantes (42%) independente do estágio de desenvolvimento ou segmento intestinal, seguidas por Firmicutes e Proteobactérias (27% e 22% respectivamente). No entanto, machos e fêmeas apresentam diferenças quantitativas nos três filós em todos os segmentos intestinais. Ao analisarmos os gêneros bacterianos observamos que, com exceção dos ovos que só possuem gêneros de actinobactérias, um firmicutes do gênero *Bacillus* é encontrado apenas nos segmentos intestinais médio e posterior dos estágios analisados. Utilizamos o sobrenadante das bactérias isoladas dos triatomíneos de campo para medir sua atividade em relação ao *Trypanosoma cruzi* e, através de medição de D.O. observamos que as formas epimastigotas do clone DM28 possuem sua taxa de replicação aumentada com apenas 5% dos sobrenadantes, quando comparadas com os controles, nos indicando uma atividade pró-biótica. Nós sequenciamos o gene ribossomal 16S dos isolados e constatamos que o isolado que apresentou atividade pró-biótica era um *Bacillus* sp. encontrado apenas nos segmentos médio e posterior do intestino dos triatomíneos de campo. Testamos esse *Bacillus* sp. em ninfas assépticas de *Rhodnius prolixus* e constatamos que essa bactéria é capaz de colonizar o trato intestinal de outra espécie de triatomíneo sem causar dano ao seu desenvolvimento. Sabe-se que moléculas como proteínas, lipídios, peptídeos, vitaminas e carboidratos, entre outras, podem influenciar no desenvolvimento e multiplicação de *T. cruzi* (*in vitro* e *in vivo*) e, portanto, pretendemos continuar com experimentos explorando o efeito pró-biótico do sobrenadante de culturas de *Bacillus* sp.

Comissão Avaliadora de Resumos

Ana Maria Jansen / IOC
Andrea Alice da Silva / UFF
André Roque / IOC
Daniel Adesse / IOC
Daniella Areas / IOC
Danielle Grynszpan / IOC
Denise Gama Batista / IOC
Elen Mello / IOC
Fernando Genta / IOC
Helena Toma / UFRJ
Hilton Nascimento / UFRJ
Jane Costa / IOC
Katia Calabrese / IOC
Marli Lima / IOC
Natalia Nogueira / UERJ
Otacílio Moreira / IOC
Otilia Sarquis / IOC
Rubem Mena-Barreto / IOC