

AVANÇOS NO ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E MOLECULAR DE *Acanthamoeba* spp (ACANTHAMOEBIDAE) – AMEBA DE VIDA LIVRE: DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DO POTENCIAL PATOGÊNICO ¹

Daniella de Sousa Mendes Moreira Alves ²

Várias espécies do gênero *Acanthamoeba* podem causar ceratite e encefalite amebiana granulomatosa. A avaliação dos critérios de patogenicidade é de grande importância para a análise do risco de infecção. Nosso objetivo foi obter a caracterização biológica e molecular de isolados de *Acanthamoeba* de solo, piscinas e espelhos d'água de Brasília-DF e de um isolado de ceratite, bem como a caracterização de seu potencial patogênico com o uso de testes de patogenicidade *in vitro* e *in vivo*. A análise da sequência do 18S rDNA revelou que, entre os 19 isolados estudados, 8 apresentaram similaridade com o genótipo T5, 6 com o genótipo T4 e 1 com o genótipo T2/T6. Além disso, 11 isolados (58%) cresceram a 37°C e 8 (42%) cresceram em presença de manitol 1,5M, parâmetros fisiológicos associados com isolados patogênicos de *Acanthamoeba*; por sua vez, quatro isolados de piscinas e um de ceratite apresentaram elevado potencial patogênico. Nos testes de patogenicidade *in vivo*, realizados com três isolados e a cepa de referência *Acanthamoeba polyphaga* (ATCC 30461), o isolado de córnea foi considerado patogênico e dois isolados ambientais, invasivos. Foi possível reduzir a porcentagem de fungos e bactérias em uma placa de cultura da cepa de referência ATCC 30461 e de bactérias em uma placa de cultura de um isolado de solo com a inoculação na cavidade peritoneal de camundongos. Nossos resultados indicam ampla distribuição de isolados de *Acanthamoeba* spp. similares aos genótipos T4, T5 e T2/T6, classificados como invasivos, em diversos habitats de Brasília-DF, o que revela o risco potencial de infecção humana e a necessidade de medidas preventivas.

1 Resumo de tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, sob orientação do Dr. César Augusto Cuba Cuba, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde, área de concentração Parasitologia. Brasília, DF, Brasil, 2012.

2 Endereço para contato: Daniella de Sousa Mendes Moreira Alves. Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, 70910-900 Brasília, DF, Brasil. E-mail: alveslm@gmail.com

ADVANCES IN THE ISOLATION AND BIOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Acanthamoeba* spp (ACANTHAMOEBIDAE) – FREE-LIVING AMOEBAS: EXPERIMENTAL DETERMINATION OF PATHOGENIC POTENTIAL

Several *Acanthamoeba* species may cause keratitis and granulomatous amebic encephalitis. The evaluation of the criteria of pathogenicity is very important to assess the risk of infection. We aimed the biological and molecular characterization of *Acanthamoeba* isolated from soil, swimming pools, and water features of Brasília, DF, Brazil, and an isolate from a patient with keratitis, as well as the characterization of their pathogenic potential by performing *in vitro* and *in vivo* pathogenicity tests. Sequence analysis of 18S rDNA revealed that among the 19 isolates tested, eight were similar to genotype T5, six to genotype T4, and one to genotype T2/T6. Moreover, 11 strains (58%) presented growth at 37°C and eight (42%) developed in medium containing 1.5M mannitol, the physiological parameters associated with pathogenic isolates of *Acanthamoeba*, whereas four strains isolated from swimming pools and one from a patient with keratitis showed high pathogenic potential. *In vivo* pathogenicity tests, performed with three isolates and the reference *Acanthamoeba polyphaga* strain (ATCC 30461), showed that the isolate from a patient with keratitis was considered pathogenic and two environmental isolates, invasive. It was possible to reduce the percentage of fungi and bacteria in a culture plate of the reference strain ATCC 30461 and bacteria in a culture plate of one soil isolate by inoculating them into the peritoneal cavity of mice. Our results indicate a wide distribution of *Acanthamoeba* spp. isolates similar to genotypes T4, T5, and T2/T6, classified as invasive, isolated from several habitats of Brasília, DF, revealing the potential risk of human infection and the need for preventive measures.

INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi* EM DOADORES DE SANGUE: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E ESTUDO DE PREVALÊNCIA NO HEMOCENTRO DE GOIÁS¹

Cristiane Araújo Tuma Santos²

Introdução: A doença de Chagas ou Tripanossomíase Americana é uma das várias doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue, o que justifica a rigorosa triagem sorológica dos doadores. A transmissão transfusional da tripanossomíase tem-se reduzido no Brasil com a implementação dos programas de controle da qualidade do sangue. *Objetivos:* Fazer uma revisão sistemática da literatura que aborda a temática da transmissão transfusional da doença de Chagas e determinar a prevalência da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em doadores de sangue que compareceram ao Hemocentro Coordenador de Goiás, Hemocentros Regionais de Catalão, Rio Verde e Jataí e às unidades móveis de coleta de 62 cidades do interior de Goiás no período de 2005 a 2009. *Material e Métodos:* 1) Revisão sistemática da literatura utilizando os descritores “doença de Chagas”, “doadores de sangue”, “*Trypanosoma cruzi*” e “transfusão de sangue” e o qualificador “epidemiologia” nas bases de dados: MEDLINE, LILACS PAHO e WHOLIS. 2) Estudo transversal para determinação de soroprevalência da infecção pelo *T. cruzi*, por meio de dados obtidos em arquivos informatizados de laboratório no qual a técnica sorológica utilizada foi o ensaio imunoenzimático (ELISA). Os doadores soropositivos foram caracterizados quanto ao sexo, idade, naturalidade e procedência, conforme os registros de atendimento. Foram calculados intervalos de confiança de 95%. Foi considerado estatisticamente significativo $p < 0,05$. *Resultados:* Foram encontrados 314 artigos nas diferentes bases de dados, dos quais 48 foram selecionados. Foram analisados 210.890 registros de doações realizadas no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2009. Foram encontrados 653 resultados positivos para infecção chagásica, o que equivale a uma prevalência de 0,3%. Entre os doadores com sorologia positiva para *T. cruzi*, 69,2% eram homens e 30,8% eram mulheres. A maioria dos doadores era natural do interior de Goiás (53,5%). A prevalência da infecção em doadores novos foi de 1,3%, enquanto em doadores de retorno foi de 0,02%. *Conclusões:* Avanços na prática da Hemoterapia na América Latina e o efetivo combate vetorial das últimas décadas diminuíram vertiginosamente a ocorrência de doença de Chagas transfusional nas áreas endêmicas. Porém, por

1 Resumo de Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás sob orientação do Prof. Dr. Marco Túlio Antônio García-Zapata como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, Área de Concentração. patologia, clínica e tratamento das doenças humanas. Goiânia, Goiás, Brasil, 2011

2 Endereço para contato: Cristiane Araújo Tuma Santos. Avenida Anhanguera, n. 5195, Setor Coimbra. Hemocentro de Goiás.

não ser restrita geograficamente, esta doença representa hoje um desafio aos países desenvolvidos que recebem grande número de imigrantes, os quais podem transmitir a doença por intermédio de hemocomponentes. A prevalência de doadores positivos no Hemocentro Coordenador e nos Hemocentros Regionais de Goiás mostra tendência temporal de queda quando comparada com estudos anteriores.

Trypanosoma cruzi INFECTION IN BLOOD DONORS: SYSTEMATIC REVIEW OF THE LITERATURE AND STUDY OF ITS PREVALENCE AT THE HEMOCENTRO DE GOIÁS, BRAZIL

Introduction: Chagas disease or American trypanosomiasis is one of several infectious diseases that may be transmitted by blood, justifying the rigorous screening of blood donors. The transmission of trypanosomiasis through transfusion has been reduced in Brazil with the implementation of programs to control the quality of blood products. *Objectives:* a) To perform a systematic review about the transmission of Chagas disease through transfusion and b) To determine the prevalence of Chagas' infection in blood donors attending the Coordinator Blood Bank of Goiás, the regional blood centers of Catalão, Rio Verde and Jataí; and blood donor mobile units that went to 62 cities in Goiás, from 2005 to 2009. *Methods:* 1) systematic review using the keywords "Chagas' disease", "blood donor", "*Trypanosoma cruzi*" and "blood transfusion" and the qualifier "epidemiology" in databases: MEDLINE, LILACS PAHO and WHOLIS. 2) Cross-sectional study to determine the seroprevalence for *Trypanosoma cruzi*, using data from computerized laboratory files whose serological technique was an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The positive donors were characterized by sex, age, nationality and origin through records of attendance. Confidence intervals were calculated at 95%. To reach statistical significance a $p < 0.05$ was considered. *Results:* There were 314 articles in different databases; 48 were included in the analysis. We analyzed 210,890 records of donations during the period of January 2005 to December 2009. 653 were found positive for *T. cruzi*, resulting in a prevalence of 0.3%. Among the donors with positive serology for *T. cruzi*, 69.2% were men and 30.8% were women. Most donors were born in Goiás State (53.5%). The prevalence of infection in new donors was 1.3% while in returning donors it was 0.02%. *Conclusions:* Advances in hemotherapy practice in Latin America and effective vector control decreased dramatically the occurrence of transfusion by *T. cruzi* infected donors in endemic areas in recent decades. However, as the infection is not restricted geographically, this disease represents a significant challenge to the developed countries that receive large numbers of immigrants, which may transmit the disease through blood transfusions. The prevalence of positive donors at the Coordinator Blood Bank and Regional transfusion centers of Goiás showed a decline when compared with previous studies.