

### INVESTIGAÇÃO DE MARCADORES IMUNOLÓGICOS NA DOENÇA DE CHAGAS UTILIZANDO OS ANTÍGENOS RECOMBINANTES CRA E FRA DE *Trypanosoma cruzi*<sup>1</sup>

Virginia Maria Barros de Lorena

As manifestações clínicas da doença de Chagas humana estão associadas com as distintas e complexas relações parasito-hospedeiro que envolvem diretamente o sistema imune. Nesse contexto, nos propomos analisar a relação entre a produção de citocinas intracitoplasmáticas após estímulo *in vitro* com os antígenos recombinantes CRA (*Cytoplasmatic Repetitive Antigen*) ou FRA (*Flagellar Repetitive Antigen*) de *Trypanosoma cruzi* e as formas clínicas crônicas cardíaca e indeterminada da doença de Chagas. O grupo de pacientes chagásicos consistiu de 39 indivíduos portadores das formas: cardíaca sem dilatação cardíaca (FC1) (n = 15), cardíaca com dilatação cardíaca (FC2) (n = 15) e indeterminada (FI), selecionados no Ambulatório de Doença de Chagas do Hospital Universitário Oswaldo Cruz da Universidade de Pernambuco. O sangue total desses indivíduos foi submetido à cultura na presença de CRA ou FRA por um dia e citocinas intracitoplasmáticas produzidas por linfócitos e monócitos foram analisadas por meio da citometria de fluxo. Nossos resultados mostraram que IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  produzidas por linfócitos T CD8+ após estímulo *in vitro* com o CRA foram capazes de diferenciar os pacientes chagásicos portadores da FC2 dos pacientes portadores da FC1 e da FI, podendo ser consideradas marcadores imunológicos da forma clínica cardíaca da doença de Chagas. Após estudo prospectivo de indivíduos portadores da FI e FC1, essa metodologia poderia ser utilizada no seguimento das intervenções terapêuticas, melhorando a qualidade de vida do paciente.

### INVESTIGATION OF IMMUNOLOGICAL MARKERS IN CHAGAS DISEASE USING THE CRA AND FRA RECOMBINANT ANTIGENS OF *Trypanosoma cruzi*

The manifestations in human Chagas disease are associated with distinct and complex host-parasite relationships, which are directly involved

1 Resumo de Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/CPqAM da Fundação Oswaldo Cruz/Fiocruz, sob a orientação dos Profs. Yara de Miranda Gomes e Rodrigo Correia-Oliveira, para obtenção do título de Doutor em Ciências, Recife-PE, 2009.

Endereço para contato: lorena@cpqam.fiocruz.br

with the immune system. In this context, we proposed to analyze the relationship between the production of intracytoplasmic cytokines after *in vitro* stimulation with recombinant antigens CRA (Cytoplasmatic Repetitive Antigen) or FRA (Flagellar Repetitive Antigen) from *Trypanosoma cruzi* and the clinical forms of chronic cardiac and indeterminate Chagas disease. The group of chagasic patients consisted of 39 individuals: cardiac form without cardiac dilatation (CF1) (n = 15), cardiac form with cardiac dilatation (CF2) (n = 15) and indeterminate form (IF) (n = 9) selected in the Chagas disease outpatient clinic of Oswaldo Cruz University Hospital, at the University of Pernambuco. Whole blood samples of patients were submitted to culture in the presence of CRA or FRA antigens during one day. The intracytoplasmic cytokines produced by lymphocytes and monocytes were analyzed by flow cytometry. Our results showed that IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ , which were produced by CD8+ T lymphocytes after *in vitro* stimulation with CRA, were able to differentiate between chagasic patients carrying the CF2 or CF1 and IF. These cytokines could be immunological markers of clinical cardiac form of Chagas disease. After a prospective study of patients from the IF and CF1 groups, this tool could be used in monitoring therapeutic interventions and improving quality of life.

# CORRELAÇÃO DOS ENTEROPARASITOS OPORTUNISTAS E MEIO AMBIENTE EM UMA POPULAÇÃO DE PACIENTES HIV/SIDA GOIÂNIA-GO<sup>1</sup>

Fátima Helena Cecchetto<sup>1</sup>

As parasitoses intestinais, por sua elevada diversidade de manifestações clínicas, representam um problema de grande importância em saúde pública, principalmente em países onde ainda são insatisfatórias as condições de saneamento básico, que é um dos principais fatores debilitantes da população. Entre os agentes que contribuem para a disseminação de enteroparasitos, destaca-se a contaminação fecal do solo e da água, de modo que todas as condições que a favoreçam devem ser criteriosamente investigadas. Tem aumentado o número de casos humanos de infecção por enteroparasitos oportunistas, entre os quais *Cryptosporidium* sp., *Strongyloides stercoralis*, *Isoospora belli*, *Cyclospora* sp. e Microsporídios intestinais. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o papel do meio ambiente na transmissão das enteroparasitoses oportunistas, em especial aos indivíduos imunodeprimidos. Este trabalho faz parte de um estudo longitudinal realizado em Goiânia (GO), Brasil, sobre agentes oportunistas em pacientes imunossuprimidos, iniciado em 1999 com o intuito de avaliar os aspectos clinicoepidemiológicos e laboratoriais das enteroparasitoses na região metropolitana e microrregiões de Goiânia. A amostragem inicial foi composta por uma população de 645 pacientes divididos em dois grupos: o primeiro compunha-se de 321 pacientes imunodeprimidos (com comprovação por meio de testes de HIV, contagem de CD4 e carga viral), especialmente positivos para HIV/SIDA, procedentes do Hospital de Doenças Tropicais, do Hospital Araújo Jorge, do Hospital das Clínicas e da Santa Casa de Misericórdia; o segundo tinha 324 pacientes HIV/SIDA negativos procedentes das Unidades Sanitárias de atenção primária à saúde do município de Goiânia. No período de 2000 a 2002, foram coletadas e analisadas amostras de fezes desses pacientes. Partindo de casos humanos positivos para enteroparasitos oportunistas, foram escolhidos aleatoriamente 18 indivíduos que formaram dois grupos: o grupo teste com 11 indivíduos, todos HIV positivos, e um grupo controle com 7 indivíduos HIV negativos. As residências desses indivíduos foram visitadas e, por meio de uma ficha para avaliação ecoepidemiológica, foram levantados dados estabelecidos pelo pesquisador. Foram coletadas amostras de solo,

---

1 Resumo da dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade de Goiás, sob orientação do Prof. Dr. José Luiz de Barros Araújo e co-orientação do Prof. Dr. Marco Túlio Antônio Garcia Zapatta, para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical, Área de concentração: Parasitologia. Goiânia (GO), 2003.

Endereço para correspondência: Rua Delenda Rezende de Melo, esq. com 1ª Avenida, Setor Universitário. Caixa Postal 131, CEP 74605-050, Goiânia, GO. E-mail: fhcecchetto@gmail.com; zapatta@iptsp.ufg.br

água e verduras de uso da família, as quais foram submetidas aos exames de rotina. Para análise do solo, foram utilizadas as técnicas de Hoffman, Pons e Janer (HPJ), Faust, Cadwell-Cadwell e colorações de Kinyoun a quente para o diagnóstico de Coccídeos. Para a água e as verduras, foram utilizadas HPJ, Faust e a técnica de filtração com filtro propileno para pesquisa de Coccídeos. Este estudo apresentou os seguintes resultados: num total de quatro residências, três (27,3%) amostras de solo estavam contaminadas por *Cryptosporidium* sp. no grupo teste e uma (14,3%) residência tinha o solo contaminado por oocistos de *I. belli* no grupo controle. As amostras de água foram todas negativas para ambos os grupos. Em relação às verduras, uma (9,1%) amostra estava contaminada por *Strongyloides stercoralis* no grupo teste. A residência que apresentou *Cryptosporidium* sp. no solo pertencia a um paciente (HIV/SIDA) com resultado de exame de fezes positivo para *C. parvum*; uma outra residência que apresentou presença de *Cryptosporidium* sp. no solo pertencia a um paciente (HIV/SIDA) com exames de fezes positivos para *I. belli*. Outra ainda com a presença de *Cryptosporidium* sp. no solo pertencia ao grupo dos pacientes não positivos para HIV/SIDA, mas com exames positivos para *I. belli*. A residência que apresentou amostras do solo com *I. belli* pertencia a uma paciente que tinha resultados de exames positivos para *I. belli* e pertencia ao grupo HIV/SIDA. Em todas as residências com amostras positivas, verificaram-se péssimas condições de higiene e utilização de esterco de bovinos no solo. Assim sendo, ficou evidenciada a necessidade de implantação de medidas básicas de Saneamento e Educação Sanitária, como providências profiláticas para a população, reforçando o que diz literatura revisada. Em relação aos imunocomprometidos, são imprescindíveis à sua melhor qualidade de vida ações básicas de saúde, orientação e acompanhamento desses pacientes. Além disso, devem ser implementadas medidas preventivas, tais como: evitar manuseio do solo, contatos com animais, inclusive domésticos (conforme preconiza a OMS); ferver a água para o consumo e também evitar ingestão de verduras cruas e consumo de alimentos e água cuja procedência seja desconhecida.

#### CORRELATION OF OPPORTUNISTIC INTESTINAL PARASITES AND THE ENVIRONMENT IN A POPULATION OF PATIENTS WITH HIV / AIDS, GOIANIA MUNICIPALITY, GOIAS STATE, BRAZIL

Intestinal parasitosis, because of their great diversity of clinical manifestations, represent a problem of great importance in public health, especially in countries that still have unsatisfactory sanitary conditions, which is a major debilitating factor of a population. Among factors contributing to the spread of intestinal parasites, faecal contamination of soil and water should be highlighted, and the conditions that contribute to it should be carefully investigated. The number of human cases with infection by opportunistic intestinal parasites has increased, among them: *Cryptosporidium* sp., *Strongyloides stercoralis*, *Isospora*

*belli*, *Cyclospora* sp. and intestinal Microsporidia. This study aims to evaluate the environmental role in the transmission of opportunistic intestinal parasitosis, especially in immunocompromised individuals. This work is part of a longitudinal study conducted in Goiania, Brazil on opportunistic agents in immunocompromised patients that started in 1999, in order to evaluate the clinical - epidemiological and laboratory characteristics of these agents in the metropolitan area of Goiania. The initial population of the sample studied was of 645 patients divided into two groups: 321 immunosuppressed patients (with evidence from HIV, CD4 count, and viral load tests), especially HIV / AIDS, from the Hospital for Tropical Diseases, Hospital Araújo Jorge, Hospital das Clinicas, and Hospital of the Holy House of Mercy; and 324 previously healthy patients deriving from primary health care units in the municipality of Goiania (HIV / AIDS negative). In the period from 2000 to 2002, stool samples from these patients were collected and analyzed. From those, 18 individuals were randomly selected from cases that were positive for opportunistic intestinal parasites, forming 2 groups: the test group with 11 cases, all HIV-positive, and a control group with seven HIV-negative individuals. The residence of these individuals were visited and through an evaluation form for eco-epidemiology, data were collected. Samples were collected from soil, water, and vegetables for consumption. All subjects were submitted to routine examinations. For soil analysis the techniques of Hoffman, Pons & Janer (HPJ), Faust, Cadwell & Cadwell and Kinyoun staining were used for coccidia diagnosis. For water and vegetables the HPJ, Faust, and the propyl-ethylene filter techniques were used for coccidia identification. Our study revealed 3 (27.3%) samples of soil contaminated with *Cryptosporidium* sp. in the test group and 1 (14.3%) sample with oocysts of *I. belli* in the control group, resulting in a total of four houses. Water samples were all negative in both groups. In relation to vegetables, 1 (9.1%) sample was contaminated with *Strongyloides stercoralis* in the test group. One of the residences with soil contamination by *Cryptosporidium* sp. belonged to a patient (HIV / AIDS) that had tested stool positive for *C. parvum*. Other residence, belonged to a patient (HIV / AIDS) who had positive stool tests for *I. belli*. The other residence belonged to a patient who was negative for HIV / AIDS but had a positive test for *I. belli*. The residence with soil contamination by *I. belli*, belonged to a patient who had a positive test for *I. belli*, and belonged to the group (HIV / AIDS). In all households that had positive samples there were bad conditions of hygiene and the use of cattle manure in the soil. Therefore, it is clear the necessity of the implementation of basic measures of sanitation and health education, as prophylactic measures for the population, as already indicated by the literature. Regarding the immunocompromised patients, basic health measures, guidance and monitoring of the patient are essential to their quality of life. Besides, preventive measures should be recommended, such as: avoiding handling soil and contact with animals, including domestic animals, (as recommended by WHO), avoiding ingestion of raw vegetables, boiling the water for consumption, avoiding consumption of food and water whose origin is unknown.