

em outros países têm avaliado os efeitos de PGM sobre a diversidade microbiana ou o perfil catabólico, mas não têm estimado os efeitos sobre populações bacterianas com potencial biotecnológico, como aquelas utilizadas na produção de enzimas, promoção de crescimento vegetal e controle de patógenos. Outro aspecto importante a ser avaliado neste projeto é a transferência horizontal de transgenes para bactérias associadas às plantas, visto que genes marcadores que conferem às bactérias resistência a antibióticos são utilizados para a produção de PGMs. Além disso, com o desenvolvimento da genômica funcional e estrutural, uma grande quantidade de espécies bacterianas têm tido o seu genoma sequenciado, bem como ESTs (Expressed Sequence Tags) de diferentes espécies vegetais, permitindo, por meio da técnica de microarranjos, uma avaliação mais precisa da expressão de inúmeros genes envolvidos na interação bactéria-planta. Assim sendo, essa técnica pode permitir uma avaliação dos efeitos da transgenia sobre a expressão de genes, da bactéria e da planta, envolvidos na interação bactéria-planta, permitindo uma avaliação mais precisa do nível de interação entre essas plantas e bactérias da rizosfera, rizoplano, endofíticas e epifíticas. Dessa forma, o presente projeto permitirá o desenvolvimento de uma área de estudo que, embora seja de extrema importância para a agricultura e biotecnologia, ainda é incipiente no Brasil, necessitando da formação de grupos de pesquisa com experiência nesse tipo de avaliação. Além disso, este projeto introduzirá a tecnologia de microarranjos de DNA para a análise da interação planta-microrganismos simbiotes, permitindo uma nova visão na análise dessa associação. Este projeto propõe também a introdução das técnicas de microarranjos e PCR quantitativo no Departamento de Genética da Esalq, favorecendo a realização de projetos na área de genômica funcional e o aumento da interação entre os estudos de comunidades microbianas e PGMs, os quais poderão ser aplicados ao melhoramento vegetal.

916

### Epidemiologia e diagnóstico molecular de doenças infecciosas e parasitárias humanas

Andrea Regina Baptista Rossit

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (Famerp)

Processo 2002/09546-1

Vigência: 1/11/2003 a 31/3/2008

As doenças infecciosas e parasitárias são um grande problema de saúde pública e sua prevalência bem como os mecanismos de suscetibilidade dos diferentes agentes infecciosos que acomete a população nacional ainda são desconhecidos. Portanto, tais questões motivam a investigação, uma vez que o conhecimento desses processos per-

mite a criação de estratégias efetivas de prevenção, controle e tratamento dessas nosologias. Contribuem para esse propósito o entendimento da epidemiologia molecular dos agentes causadores da malária e a sua correlação com os grupos sanguíneos, polimorfismos eritrocíticos e hemoglobinopatias na Amazônia brasileira, bem como da epidemiologia de *Candida spp.* e seus perfis de resistência antifúngica. Desse modo, a associação entre os subprojetos aqui propostos justifica-se pela necessidade de criação de um grupo de pesquisa em epidemiologia e diagnóstico molecular de microrganismos, até então inexistente, no DDIP e a pós-graduação da Famerp, bem como visa à otimização do uso dos equipamentos e do material de consumo a ser utilizado no Centro de Investigação de Microrganismos.

917

### Uso de biopolímeros bacterianos para a liberação controlada de princípios ativos com atividade farmacêutica

Maria Filomena de Andrade Rodrigues

Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT)

Secretaria de Desenvolvimento

Processo 2001/01874-7

Vigência: 1/2/2002 a 28/2/2005

O projeto visa estudar e desenvolver o potencial de aplicação de poli-hidroxicanoatos (PHA) para microencapsulação de drogas para a liberação controlada de princípios ativos. Serão testados três tipos de PHA: o poli-3-hidroxi-butirato (P3HB), o copolímero poli-3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato (P3HB-co-3HV) e o polímero poli-3-hidroxi-4-pentenoato (P3H4PE) devido à insaturação. P3H4PE é interessante para o tipo de aplicação proposta, pois esse polímero é produzido em pequenas proporções por linhagens de *Burkholderia* isoladas de solo. Será feito um estudo para melhorar a produção de P3H4PE, por meio do processo fermentativo e melhoramento genético da linhagem bacteriana envolvida. O grupo vinil do monômero 3H4PE é um alvo potencial para modificações químicas do polímero, devido à insaturação. Dependendo do agente químico, isso pode induzir novas propriedades aos polímeros. Assim, será estudado o potencial de modificações químicas do PHA insaturado P3H4PE. O trabalho proposto abrange atividades do Agrupamento de Biotecnologia (AB), que há cerca de dez anos vem desenvolvendo trabalhos na área de produção de poli-hidroxicanoatos e o Laboratório de Partículas do Agrupamento de Processos Químicos (APQ) do IPT, com larga experiência na área de microencapsulação. No AB serão realizadas as atividades de: microbiologia, visando ao melhoramento genético das bactérias produtoras de P3H4PE, com a busca de mutantes alterados na biossíntese de PHA; fermentação, com ensaios em biorreatores

para definir parâmetros e identificar a melhor condição para a produção do polímero; separação dos polímeros em meio aquoso, pela ação de enzimas e modificação química dos polímeros insaturados. No laboratório de partículas do APQ/DQ, será desenvolvido o processo de microencapsulação para liberação controlada de fármacos com substâncias ativas diversas, para avaliar o espectro de substâncias passíveis de liberação controlada por meio desse processo, o desempenho dos sistemas encapsulados no controle da liberação dos ativos serão avaliados através de ensaios *in vitro*. Os polímeros P3HB e P3HB-co-3HV serão produzidos pela linhagem *Ralstonia eutropha* e o P3H4PE por linhagens de *Burkholderia* (Rodrigues *et al.*, 1995). A separação e purificação dos polímeros produzidos será feita em meio aquoso com lise enzimática para a obtenção de suspensões aquosas de grânulos de alta pureza, gerando produtos com propriedades definidas, como dureza, grau de cristalinidade, propriedades químicas e peso molecular. Em todas as etapas do processo, os polímeros deverão ser caracterizados com relação à sua composição e pureza.

### 918 Produção de cianotoxinas (microcistinas) e sua detecção em reservatórios de água

David Henry Moon

Centro de Energia Nuclear na Agricultura  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 1997/13242-8  
Vigência: 1/9/1998 a 31/8/2002

A contaminação de águas destinadas ao consumo humano com cianotoxinas é um problema mundial e vem aumentando devido à poluição ambiental. A produção dessas toxinas ocorre durante a floração de algumas espécies de cianobactérias e elas podem ser fatais para animais e humanos. Análises de rotina para detectar essas toxinas na água ainda não são realizadas no Brasil devido à falta de uma metodologia adequada. O presente projeto de pesquisa visa desenvolver uma técnica molecular para identificar a produção de microcistinas utilizando DNA extraído diretamente dos microrganismos presentes na água de reservatórios. Para tanto, as cianobactérias presentes nas florações serão isoladas, identificadas e, após a obtenção de culturas axênicas, análises moleculares serão feitas para identificar sequências homólogas de genes de peptidossintetases utilizando PCR. Estes fragmentos serão clonados e sequenciados visando encontrar *primers* específicos para detectar esses genes em amostras ambientais. Esse método será comparado com outro a ser também desenvolvido, ou seja, a produção de anticorpos específicos contra microcistina (MC-LR) para a utilização em Elisa. Essas microcistinas produzidas pelas culturas isoladas serão determinadas utilizando cromatografia líquida de alta resolução (sistema Akta da Pharmacia) na

tentativa de identificar novas microcistinas a serem caracterizadas posteriormente. Os fatores ambientais que induzem a produção dessas toxinas durante as florações de cianobactérias também serão estudados por meio de análises dos parâmetros físico-químicos desses reservatórios de água, cujos resultados serão correlacionados com a ocorrência das florações. As condições ambientais encontradas no início da floração serão simuladas em um fermentador para se estudar a biologia da produção de microcistina, sua indução e possível controle.

### 919 Meningites por enterovírus: estudos de patogênese, imunidade e prevalência em Ribeirão Preto

Eurico de Arruda Neto

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 1995/09692-2  
Vigência: 1/6/1997 a 30/9/2007

Apesar da sua importância clínico-epidemiológica, a patogênese das meningites enterovirais não é conhecida em detalhes. A prevalência dessas infecções no nosso meio é supostamente alta, mas não há estudos longitudinais de longa duração. O presente projeto de pesquisa tem três objetivos principais: 1) localizar a replicação de enterovírus no nível da sua porta de entrada no epitélio intestinal e a via de invasão do sistema nervoso central; 2) avaliar a prevalência de meningites enterovirais na população servida pelo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, utilizando métodos diagnósticos eficazes; e 3) produzir proteína VP1 recombinante, que contém epitopos imunodominantes de vírus *Coxsackie B* e testar sua imunogenicidade. Para atingir o primeiro objetivo, serão utilizados estudos de hibridização *in situ* em modelos murinos de infecção per-oral e parenteral, em culturas de mucosa intestinal e de células endoteliais humanas infectadas *in vitro*, e em células de sedimento líquido de pacientes com meningite por enterovírus. Para atingir o segundo objetivo, será desenvolvida detecção de enterovírus no líquido por isolamento em cultura de células, imunofluorescência, PCR e inoculação em camundongos recém-nascidos. Para atingir o terceiro objetivo, planeja-se produzir um clone de VP1 de vírus *Coxsackie B5* e *Echovirus 30*, expressar a proteína recombinante e testar a sua imunogenicidade e reatividade cruzada com outros enterovírus.

### 920 Biopolímeros adesivos não específicos de microrganismos

Rene Peter Schneider

Instituto de Ciências Biomédicas