

Os canais radiculares infectados tipicamente alojam uma flora mista, incluindo muitas espécies anaeróbias. Vários estudos têm reportado que bactérias específicas, principalmente as anaeróbias gram-negativas (por exemplo: *bacteroides black-pigmented*), estão relacionadas com a presença de sinais e sintomas de origem endodôntica (Gomes, 1995). No entanto, tais bactérias não foram encontradas em muitos trabalhos. Esta autora também observou que certas combinações de bactérias estão mais envolvidas no aparecimento das manifestações clínicas que uma espécie individual. Por outro lado, para se obter sucesso no tratamento endodôntico, o número das bactérias deve ser reduzido o mais possível por meio dos procedimentos da biomecânica. Todavia, nem todas as espécies se comportam igualmente frente a esse tratamento. Gomes (1995) reportou que os *Peptostreptococcus spp.*, apesar de estarem associados com vários sintomas clínicos, são bastante sensíveis à biomecânica. Por outro lado, a mesma autora encontrou que certas bactérias, tais como os *Enterococcus faecalis*, *Propionibacterium acnes*, são mais resistentes a essa forma de tratamento. Além disso, a extensão na qual os achados microbiológicos refletiriam acuradamente a microflora dos canais radiculares é obviamente dependente da eficácia dos métodos de coleta e de processamento da amostra usados. Considerando todos os aspectos acima citados, este projeto tem como principal objetivo isolar as bactérias *black-pigmented* dos canais radiculares de pacientes portadores de problemas endodônticos e relacionar a presença delas com diferentes aspectos clínicos apresentados pelos pacientes. Isso ajudará a traçar um perfil dos pacientes portadores dessas bactérias nos seus canais radiculares. Também é objetivo verificar a resistências de bactérias específicas ao tratamento endodôntico de rotina. Os canais radiculares serão investigados microbiologicamente, utilizando meios de cultura, transporte e incubação que propiciem o crescimento das bactérias anaeróbias e os achados clínicos correlacionados para avaliar diferentes associações.

## PARASITOLOGIA

944

### Caracterização molecular das interações entre o carrapato-vetor e o agente etiológico da febre maculosa, *Rickettsia rickettsii*

Andrea Cristina Fogaça  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 2008/53570-0  
Vigência: 1/1/2009 a 31/12/2011

A febre maculosa (*spotted fever*) é uma doença severa ocasionada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*. Diversos casos da doença são relatados anualmente em vários países do continente americano, incluindo o Brasil, onde as taxas

de letalidade chegam a 40%. *R. rickettsii* é transmitida por espécies de carrapatos dos gêneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Amblyomma*, sendo que no Brasil a transmissão é dada usualmente por *A. cajennense* e *A. aureolatum*. Embora *R. rickettsii* possa permanecer por várias gerações do vetor por meio de transmissões transestadial e transovariana, diversos estudos têm demonstrado que apenas uma pequena parcela (inferior a 1,5%) de carrapatos de áreas endêmicas encontra-se infectada por *R. rickettsii*. É possível que a baixa prevalência da bactéria nas populações de carrapatos seja decorrente de sua patogenicidade para o vetor, uma vez que carrapatos infectados apresentam menores taxas de sobrevivência e de reprodução. Interessantemente, colônias de *A. aureolatum* e de *A. cajennense* mantidas em laboratório apresentam diferentes taxas de prevalência (100% e 10-20%, respectivamente) de *R. rickettsii*. Dessa maneira, a caracterização molecular das interações entre os carrapatos *A. aureolatum* e *A. cajennense* e a bactéria *R. rickettsii* torna-se fundamental, podendo gerar informações tanto para o esclarecimento dos mecanismos de virulência de *R. rickettsii* para carrapatos quanto para o entendimento dos mecanismos responsáveis pela aparente restringência de *A. cajennense* à infecção. Alguns dados disponíveis na literatura sugerem que a alimentação sanguínea bem como a manutenção de carrapatos em temperaturas próximas à do hospedeiro são fatores importantes para a reativação da virulência de *R. rickettsii* em carrapatos. No entanto, os mecanismos moleculares responsáveis por essa reativação permanecem desconhecidos. Assim, estudos sobre a expressão de genes de *Rickettsia* durante a infecção do carrapato-vetor podem fornecer informações importantes para a elucidação dos mecanismos de virulência de *R. rickettsii* para seus vetores. Com base nos dados acima mencionados, o presente projeto tem como objetivos avaliar, pela primeira vez, os efeitos da infecção por *R. rickettsii* sobre o perfil de expressão gênica de carrapatos, bem como determinar os efeitos da temperatura e da alimentação sanguínea sobre o perfil de expressão gênica dessa bactéria durante a infecção do carrapato-vetor. Este estudo pretende gerar subsídios para uma melhor compreensão das interações entre o vetor e o agente etiológico da febre maculosa no Brasil, podendo ainda levar à identificação de potenciais alvos para o desenvolvimento de vacinas para o controle dessa doença.

945

### Avaliação da interferência da infecção pela bactéria *Rickettsia rickettsii* na expressão gênica de ovos, larvas e ninfas do carrapato *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae)

Adriano Pinter dos Santos  
Superintendência de Controle de Endemias (Sucen)  
Secretaria de Estado da Saúde  
Processo 2008/11401-8  
Vigência: 1/12/2009 a 30/11/2013

A febre maculosa é uma doença severa ocasionada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*. Diversos casos da doença são relatados anualmente em vários países do continente americano, incluindo o Brasil, onde as taxas de letalidade chegam a 40%. *R. rickettsii* é transmitida por espécies de carrapatos dos gêneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Amblyomma*, sendo que no Brasil, a transmissão é dada usualmente por *A. cajennense* e *A. aureolatum*. Embora *R. rickettsii* possa permanecer por várias gerações no vetor mediante a perpetuação transestadial e a transmissão transovariana, diversos estudos têm demonstrado que apenas uma pequena parcela (inferior a 1,5%) de carrapatos de áreas endêmicas encontra-se infectada por *R. rickettsii*. É possível que a baixa prevalência da bactéria nas populações de carrapatos seja decorrente de sua patogenicidade para o vetor, uma vez que carrapatos infectados apresentam menores taxas de sobrevivência e de reprodução. Dessa maneira, a caracterização molecular das interações entre os carrapatos *A. aureolatum* torna-se fundamental, podendo gerar informações para o esclarecimento dos mecanismos de virulência de *R. rickettsii* para carrapatos, assim como para a manutenção da bactéria no ciclo enzoótico. Alguns dados disponíveis na literatura sugerem que *R. rickettsii* é mais virulenta para ninfas do que para larvas de carrapatos e que a alimentação sanguínea é importante para a reativação da virulência dessa bactéria em carrapatos. No entanto, os mecanismos moleculares envolvidos nestes processos permanecem desconhecidos. Assim, estudos sobre a expressão de genes do carrapato vetor infectado pela bactéria *R. rickettsii*, podem fornecer informações importantes para a elucidação dos mecanismos de interação entre a bactéria e o seu vetor/reservatório natural. Com base nos dados acima mencionados, o presente projeto tem como objetivos avaliar, pela primeira vez, a expressão gênica do carrapato-vetor *A. aureolatum*, nos estágios de ovo, larva e ninfa, quando infectado pela bactéria *R. rickettsii*, comparado ao grupo-controle, e o posterior silenciamento de alguns destes genes pela técnica de RNAi. Este estudo é complementar a outro estudo do nosso grupo de pesquisa, que avaliará a expressão gênica de *R. rickettsii* quando infectando carrapatos da espécie *A. aureolatum* (FAPESP Processo 08/53570-0). Em conjunto, os resultados destes projetos deverão servir de subsídios para uma melhor compreensão das interações entre o vetor e o agente etiológico da febre maculosa no Brasil, podendo ainda levar à identificação de potenciais alvos para o desenvolvimento de vacinas para o controle desta doença.

946

**Análise da resposta imune contra antígenos de superfície de eritrócitos humanos infectados por *Plasmodium spp.*: ênfase no aprimoramento de vacinas e no desenvolvimento de anticorpos**

Fabio Trindade Maranhão Costa

Instituto de Biologia

Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

Processo 2004/00638-6

Vigência: 1/7/2004 a 30/6/2009

A adesão de PFEI, eritrócitos infectados por *P. falciparum*, a condroitina-sulfato-A (CSA) na placenta por via do domínio DBL-3 acarreta numa síndrome denominada malária gestacional. A comprovação do envolvimento da CSA na adesão de PFEI *in vitro* e *in vivo*, a clonagem do ligante DBL-3 e a expressão recombinante DBL-3 em células de inseto permitiram o desenvolvimento de anticorpos monoclonais (AcM) capazes de inibir *in vitro* a aderência PFEI à CSA, e de reconhecer especificamente PFEI de diferentes regiões geográficas (pan-reatividade). Além disso, macacos imunizados com esse recombinante apresentam anticorpos pan-reativos e inibidores da adesão de PFEI à CSA *in vitro*. No entanto, o baixo título de anticorpos induzidos e a ausência de um modelo de infecção experimental de baixo custo e de fácil manipulação tornam difícil a análise dessas proteínas para o aumento da magnitude da resposta imune induzida. Esses fatores justificam a implementação de um modelo de sequestração de PFEI em camundongos e a utilização de adjuvantes e recombinantes mais imunogênicos. Desenvolveu-se uma técnica baseada na tolerização de camundongos recém-nascidos, gerando AcM bloqueadores da invasão e capazes de reconhecer antígenos na superfície de PFEI. Dessa maneira, a geração de AcM contra *P. vivax* utilizando essa técnica seria uma forma para analisar expressão e identificar antígenos de superfície de PVEI ainda pouco estudados.

947

**Diversidade alélica, recombinação intragênica e reconhecimento imune da proteína da superfície de merozoítos-2 (MSP-2) de *Plasmodium falciparum***

Marcelo Urbano Ferreira

Faculdade de Medicina de Rio Preto

Processo 1998/14587-1

Vigência: 1/4/1999 a 31/3/2002

Este projeto objetiva, em primeiro lugar, examinar padrões de diversidade alélica e de recombinação no gene que codifica a MSP-2, um dos principais antígenos candidatos à vacina contra estágios assexuados sanguíneos de *Plasmodium falciparum*, em isolados de três regiões com diferentes níveis de endemicidade de malária: Amazônia brasileira, Sudeste Asiático e África Ocidental. Com este objetivo, serão empregados métodos de tipagem molecular e de sequenciamento direto de fragmentos de DNA amplificados por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR). Em segundo lugar, objetiva-se avaliar o potencial impacto