

MICOTOXINA CITRININA, PROPRIEDADES E CONTAMINAÇÃO DE GRÃOS, ANIMAIS E PROBLEMAS NA SAÚDE

Matheus Maximilian Ratz Scoarize
Renan Falcioni

Universidade Estadual de Maringá (UEM). Departamento de Biologia. Av Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. Maringá (PR). e-mail: maxscoarize@gmail.com

Introdução

Micotoxinas são consideradas metabólitos secundários de fungos, que não são, necessariamente, essenciais ao seu crescimento e sobrevivência, mas que podem afetar, de alguma forma, os organismos que por ventura a ingerem, quando presentes em água ou alimentos contaminados, podendo acarretar prejuízos na saúde, tanto em animais quando em humanos (Lino et al., 2004; Balbani e Butugan, 2001; Hackbart, 2009; Oliveira, 1999).

A micotoxina citrinina é conhecida desde 1931, quando foi isolada a partir de *Penicillium citrinum*, mas também pode ser produzida por espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Monascus* (Vivian, 2002; Freire et al., 2007; Vitorino, 2011). Possui fórmula molecular $C_{13}H_{14}O_5$ e seu nome é (3R,4S)-4,6-dihidro-8-hidroxi-3,4,5-trimetil-6-oxo-3H-2-benzopirano-7-ácido carboxílico, com ponto de fusão de 172°C (Blanc et al., 1995).

A citrinina pode ser encontrada em vários produtos agrícolas, tais como cereais, milho, frutas secas, além de produtos pecuários como leite, ovos e carne de animais (Abrunhosa, 2008; Bozza, 2010).

Foram demonstrados que cepas de *Monascus* podem contaminar o arroz com a micotoxina citrinina, produzindo uma coloração do amarelado ao vermelho e que sua dose letal varia de 10 a 100 mg/kg, determinado em camundongos; e, demonstrado também que doses acima de $0,25 \text{ mg.mL}^{-1} \cdot 10^{-6}$ células, seriam capazes de inibir completamente a síntese de algumas proteínas relacionadas ao sistema imunológico (Carvalho et al., 2005; Renhe et al., 2006).

Em grãos, a citrinina atua como a causa da doença do arroz amarelo no Japão, e em animais e humanos, a citrinina atua como uma potente nefrotoxina, causando sérios problemas aos rins e aos tubos proximais, além de potenciais agentes causadores da nefropatia endêmica de Balkan, bem como relato de casos na literatura como problemas asmáticos, rinite e conjuntivite (Izawa, 1996; Murray, 2006; Pepeljnjak, 2002). Nesse contexto, este estudo objetivou realizar um levantamento de dados relativos à micotoxina citrinina, com atenção às suas propriedades em relação à saúde humana e animal.

Materiais e Métodos

Para a realização desse estudo foram utilizadas como fonte de referências os artigos científicos disponíveis nas bases de dados eletrônicas, ambas disponibilizadas pelo Portal de Periódicos da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e SCIELO (*Scientific Electronic Library Online*). Foram estabelecidas as palavras-chave como critérios para a busca, micotoxina citrinina, efeito citrinina, citrinina em animais, citrinina em humanos, além da busca de teses de dissertações de mestrado e doutorado, segundo a base de dados do Google Acadêmico. Para completar a investigação foram utilizados livros de bioquímica e medicina veterinária disponíveis no acervo da BCE (Biblioteca Central da Universidade Estadual de Maringá).

Resultados

A citrinina é uma micotoxina resultante do metabolismo de fungos dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Monascus*, pouco estudada, quando comparada a outras micotoxinas como a zearalenona. Porém esta micotoxina é de fundamental importância quando se trata de saúde em animais, incluindo humanos. Com uma dose letal variando de 10 a 100 mg/kg em camundongos, deve ser dada uma atenção especial na sua contaminação em grãos, principalmente em arroz.

Conclusão

Podemos perceber que a citrinina não são amplamente estudadas, como outras micotoxinas, mas seus estudos são de fundamental importância, tanto para se reduzir a sua dispersão pelos alimentos, quanto conhecer melhor suas ações biológicas e bioquímicas nos organismos.

Referências Bibliográficas

- ABRUNHOSA, L. J. **Estratégias para controle de ocratoxina A em alimentos**. Dissertação - Doutorado em Engenharia Química e Biológica. Escola de Engenharia, Universidade do Minho. 2008.
- BALBANI, A. P.S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria São Paulo**, v. 23, n. 4, p. 320-328, 2001.
- BLANC, P. J.; LORET, M. O.; GOMA, G. Production of citrinin by various species of *Monascus*. **Biotechnol. Lett.**, v. 17, n. 3, p. 291-294, 1995.
- BOZZA, A. **A detecção e quantificação de ocratoxina produzida por espécies de *Aspergillus* isoladas de grãos de café**. Dissertação - Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia. Universidade Federal do Paraná. 2010.
- CARVALHO, C. A.; FERNANDES, B. C. T. M.; FREIRE, F.R. Supressão da resposta imunitária humoral causada pela citrinina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 57, n. 2, p. 171-176, 2005.
- FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, I. G.P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. P. Micotoxinas: Importância na alimentação e na saúde humana e animal. **Embrapa Agroindústria Tropical**, v.1, p. 01-48, 2008.
- HACKBART, H. C. S. **Ocratoxina e a citrinina em arroz: um estudo de metodologia para determinação simultânea de ocorrência**. Dissertação – Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental. Universidade Federal do Rio Grande. 2009.
- IZAWA, S.; HARADA, N.; WATANABE, Y. Inhibitory effects of food coloring agents derived from *Monascus* on the mutagenicity of heterocyclic amines. **J. agricult. Food Chem.**, v. 45, p. 3980-3984, 1997.
- LINO, C. M.; SILVA, L. J. G.; PENA, A. S. Fumonisin: presença em alimentos, implicações na saúde e aspectos legislativos. **Rev. Portuguesa Ciênc. Vet.**, v. 99, n. 552, p. 181-192, 2004.
- MURRAY, P. R.; PFALLER, M. I. C. **Microbiología Médica**. 5.ed. Madrid: Elsevier España. 2006. 794 p.

- OLIVEIRA, J. C. **Micologia médica**. 1.ed. Rio de Janeiro: Control-Lab. 1999. p.196.
- PEPELJNJAK, S.; EGVIC, M.; OZEGOVIC, L. Citrininotoxigenicidade de *Penicillium* sp. isolado de maçãs deterioradas. **Braz. J. Microbiol.**, v. 33, n. 2, p. 134-137, 2002.
- RENHE, I. R. T.; VOLP, A. C. P.; VIDIGAL, J. G.; STRINGHETA, P. C. Monascus na nutrição e saúde. **Alim. Nutr.**, v. 17, p. 3, p. 337-343, 2006.
- VITORINO, O. C. L. **Micotoxinas na Alimentação e na saúde animal e humana**. Dissertação - Mestrado em Engenharia Zootécnica. Universidade de Açores. 2011.
- VIVIAN, J. **Produção da micotoxina citrinina por *Penicillium* spp.** Dissertação - Mestrado em Microbiologia Agrícola. Universidade federal de Viçosa. 2002.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME POR LEVEDURAS *Candida albicans* ISOLADAS DE PACIENTES COM CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

**Glaucia Sayuri Arita
Waylla Albuquerque de Jesus
Isis Regina Grenier Capoci
Patrícia de Souza Bonfim de Mendonça
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski**

Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Laboratório de Micologia Médica, LEPAC. Av. Colombo, nº 5790, Bloco T-20, Maringá (PR), CEP: 87020-90. e-mail: w.albuquerque11@gmail.com

Introdução

A candidíase vulvovaginal (CVV) é um processo infeccioso do trato geniturinário inferior feminino (Boatto et al., 2007), importante na clínica médica, devido ao grande número de atendimentos nos consultórios da rede pública e privada (Silva et al., 2008; Boatto et al., 2007), sendo *Candida albicans* responsável por 60 e 70% dos episódios. Contudo, outras espécies de *Candida* podem produzir idênticas manifestações clínicas. O fungo não é mero participante passivo no processo infeccioso e assim, existem algumas propriedades ligadas às leveduras do gênero *Candida*, comumente denominadas fatores de virulência, que lhes conferem a capacidade de produzir doença (Calderone e Fonzi, 2001).

A produção de biofilme é um desses fatores de virulência, e pode ser definido como um conjunto de micro-organismos firmemente aderidos a uma superfície, envoltos por uma matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos produzidos por eles (Costerton et al., 2003). Em CVV, a avaliação da capacidade de formação de biofilme é importante devido à possibilidade de sua ocorrência em dispositivos intra-uterinos (DIU) e na Candidíase Vulvovaginal Recorrente (CVVR) não relacionadas a DIU. Esse estudo avaliou a formação de biofilme por leveduras *C. albicans* isoladas de pacientes com candidíase vulvovaginal.

Materiais e Métodos

Para o desenvolvimento do trabalho foram utilizadas 30 cepas de *Candida albicans*, isoladas de pacientes com candidíase vulvovaginal, e uma cepa padrão *C. albicans* ATCC 90028 que estavam estocadas à -20°C na Micoteca do Laboratório de Micologia Médica, da Universidade Estadual de Maringá. O ensaio de formação de biofilme foi realizado através do que é padronizado pela técnica de Schin (2002), e coloração por cristal violeta, segundo Negri (2010).

Resultados

Todas as 30 leveduras avaliadas formaram biofilme, porém 15 delas apresentaram biofilme com valor baixo, menor que 0,1, ou seja, com menor capacidade de formar biofilme. Já as outras 15 formaram mais biofilme, variando de 1,04 a 1,86. Os resultados estão apresentados na Figura 1.

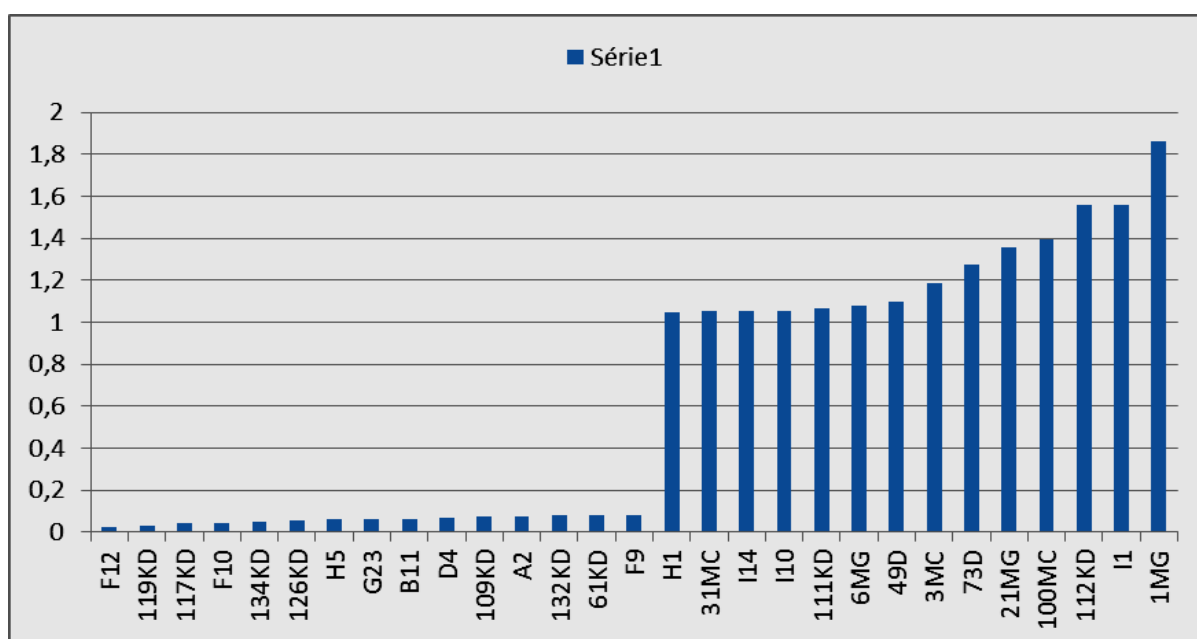


Figura 1: Capacidade de produzir biofilme por *Candida albicans* isoladas de CVV, avaliado por espectrofotometria (eixo Y = densidade óptica obtida em 570 nm, diretamente proporcional à biomassa formada).

Conclusão

O presente trabalho mostrou que cepas de *C. albicans*, isoladas de candidíase vulvovaginal, podem ter variabilidade na formação de biofilme; e que alguns isolados possuem alta capacidade de expressar este fator de virulência. Assim, este estudo contribui para a compreensão da patogênese de leveduras isoladas de CVV.

Referências Bibliográficas

- BOATTO, H. F.; MORAES, M. S.; MACHADO, A. P.; GIRÃO, M. J. B. C.; FISCHMAN, O. Correlação entre os resultados laboratoriais e os sinais e sintomas clínicos das pacientes com candidíase vulvovaginal e relevância dos parceiros sexuais na manutenção da infecção em São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v. 29, v. 2, p. 80-84, 2007.
- CALDERONE, R. A.; FONZI, W. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends Microbiol.**, v. 9, n.7, p. 327-31, 2001.
- COSTERTON, W. et al. The application of biofilm science to the study of and control of chronic bacterial infections. **J. Clin. Invest.**, v. 112, p.1446-1477, 2003.
- NEGRI, M. et al. Crystal Violet staining to quantify *Candida* adhesion to epithelial cells. **Br. J. Biomed. Sci.**, v. 67, n. 3, p. 120-125, 2010.
- SHIN, J. H. et al. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. p. 1244-1248, 2002.

SILVA, C. R. G.; MELO, K.E.; LEÃO, M. V. P.; RUIS, R.; JORGE, A.O. C. Presença de *Candida* nas mucosas vaginal e bucal e sua relação com IgA salivar. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v. 30, n. 6, p. 300-305, 2008.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

TERAPIA LARVAL PARA REMOVER TECIDOS NECRÓTICOS EM VÁRIOS TIPOS DE FERIDAS

**Tatiana Almeida
Helio Conte**

Universidade Estadual de Maringá-UEM. Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular (DBC), Laboratório de Controle Biológico, Morfologia e Citogenética de Insetos. Av. Colombo, nº 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900.
e-mail: tatibalu@hotmail.com

Introdução

O elevado número de pacientes com feridas crônicas e a dificuldade que encontram em sua qualidade de vida, tornam esse assunto um desafio para os profissionais de saúde (Rocha et al., 2005; Pedro e Saraiva, 2012). Os profissionais de enfermagem são os que mais se debatem com essa realidade, pois são considerados 'profissionais da linha de frente'. Silva (1995) e Tiago (1996) descreve que esses profissionais vivenciam essa problemática diariamente, pois o tratamento de feridas é uma área que requer conhecimento, técnicas avançadas para melhor atender as necessidades desses pacientes. Bioterapia, terapia larval, biocirurgia ou biodesbridamento utilizam larvas de dípteros para remover material necrótico ou infectado em lesões de pele, estimulando com isso a cicatrização dos tecidos saudáveis. Essa técnica, introduzida nos Estados Unidos por volta de 1930, está sendo muito utilizada devido ao aumento de pacientes diabéticos e a resistência bacteriana aos antibióticos (Marcondes, 2006). Com base nestes dados o objetivo deste trabalho foi realizar uma investigação sobre o tema acima abordado, procurando destacar as vantagens e desvantagens na adoção desta técnica.

Materiais e Métodos

Foi realizada uma revisão bibliográfica dos principais conceitos referentes à Terapia Larval, registrados nos bancos de dados do Portal CAPES, SCIELO, LILACS, SCIRUS, revistas nacionais e internacionais: Elsevier, Science Direct, Springer, Ciência e Tecnologia, visando compilar dados já avaliados pela ciência sobre a técnica em questão.

Desenvolvimento

A técnica da Terapia Larval é realizada com larvas de moscas específicas. Utilizam-se larvas vivas previamente descontaminadas, as quais serão responsáveis pela limpeza e remoção dos tecidos necróticos em vários tipos de feridas (Martini e Sherman, 2003; Varzim, 2005; Figueroa et al., 2007). Os pacientes necessitam de orientação antes de iniciar o tratamento com a terapia larval, pois a informação é a base do mesmo, por se tratar de um curativo realizado com larvas (Fortes, 1998). Pereira (2006), Silva et al. (2007) e Dallavechia et al. (2012) relatam que no caso das lesões de pele, o tecido desvitalizado compromete o fator cicatrização. A aplicação das larvas se encarrega do processo de desbridamento, alimentando-se do tecido necrosado e promovendo, assim, a sua cicatrização (Trowbridge e Emling, 1996; Cesaretti, 1998; UNICAMP, 2000; Balbino et al., 2005).

A terapia larval ainda encontra muitos obstáculos, sendo o maior deles a recusa do paciente, pois o desbridamento realizado com larvas pode apresentar repulsa do paciente por

considerar o tratamento sujo, daí a necessidade de que sejam orientados sobre a Terapia Larval (Marcondes, 2006; Maluf et al., 2008).

Conclusão

Podemos citar como vantagens neste tipo de tratamento a maior rapidez no processo da cicatrização e custo baixo, além de proporcionar maior conforto ao paciente, pois o odor desagradável através do desbridamento contínuo é eliminado. Quanto às desvantagens, pelo fato de colocar larvas em contato direto com o corpo, tal tratamento, para alguns pacientes pode ser visto como bizarro, causar repulsa, acharem um tratamento sujo. Portanto, a terapia larval necessita ser mais difundida, os profissionais de saúde necessitam de maiores informações e em seguida divulgá-las aos pacientes, através de relato de casos e orientações.

Referências Bibliográficas

- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Ciências Farm.**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.
- CESARETTI, I. U. R. Processo fisiológico de cicatrização de ferida. **Pelle Sana**, v. 2, p. 10-12, 1998.
- DALLAVECCHIA, D. L.; PROENÇA, B. N.; COELHO, V. M. A. Bioterapia: uma alternativa eficiente para o tratamento de lesões cutâneas. **R. Pesq.: Cuid. Fundam. (Online)**, v.3, n. 3, p. 2071-2079, 2011.
- FIGUEROA, L.; FLORES, J.; RODRIGUES, S. Método de cultivo de larvas de moscas *Lucilia sericata* para terapia larval. **Parasitol. Latinoam.**, n. 61, p. 79-82, 2007.
- FORTES, P. A. C. **Ética e saúde: questões éticas e legais, tomada de decisões, autonomia e direitos do paciente, estudo de casos.** São Paulo: EPU. 1998. p. 44-49.
- MALUF, F.; CARVALHO, G. P.; DINIZ JUNIOR, J. Consentimento livre e esclarecido em odontologia nos hospitais públicos do Distrito Federal. **Ciênc. Saúde Coletiva**, v. 12, n. 6, p. 1737-1746, 2008.
- MARCONDES, C. B. **Terapia Larval de lesões de pele causadas por diabetes e outras doenças.** Florianópolis: Editora da Universidade Federal de Santa Catarina. 2006. p. 77-81.
- MARTINI, R. K.; SHERMAN, R.A. Terapia de Desbridamento com larvas. **J. Bras. Med.**, v. 85, n. 4, p. 82-85, 2003.
- PEDRO, I.; SARAIVA, S. Intervenções de enfermagem na gestão de biofilmes em feridas complexas. **Journal of Aging & Inovation**, v. 1, n. 6, p. 78-88, 2012.
- PEREIRA, A. L. **Revisão sistemática da literatura sobre produtos utilizados no tratamento de feridas, em Goiânia.** Dissertação. Goiânia. Faculdade de Enfermagem. UFG. 2006.
- ROCHA, R. P. A.; WAGNER, S. G.; LACY, C. B. J. Avaliação morfológicas da cicatrização de lesões ulcerativas assépticas tratadas com solução de papaína. VII **Congresso Virtual Hispanoamericano de Anatomia patológica y I Congreso de Preparaciones Virtuales.** 2005.
- SILVA, R. C. L.; FIGUEIREDO, N. M. A.; MEIRELES, I. B. **Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem.** São Paulo: Yendis. 2007, p. 87-90.
- SILVA, V. E. F. **O desgaste do trabalhador de enfermagem- estudo da relação trabalho e saúde do trabalhador.** Tese. São Paulo: Escola de Enfermagem da USP. 1995.
- TIAGO, F. **Feridas: Etiologia e tratamento.** 2 ed. Ribeirão preto. FAEPA. 1995. p. 65-66.

TROWBRIDGE, H. O.; EMLING, R. C. **Inflamação: uma revisão do processo**. 4 ed. São Paulo. 1996, p. 32-36.

UNICAMP. **Manual de tratamento de feridas**. Universidade Estadual de Campinas. Hospital das Clinicas, Grupo de estudo de feridas. Campinas, 2000, p. 21-23.

VARZIM, F. L. S. B. **Descontaminação de ovos de moscas varejeiras *Chrysomya putoria* (Wiedmann, 1830) (Diptera; Calliphoridae) para utilização em Bioterapia** Tese. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 2005.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

AVALIAÇÃO OCULAR E SÉRICA DO TGF-beta EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM BIOTERÁPICOS DE *Toxoplasma gondii* e INOCULADOS COM O PROTOZOÁRIO

**Caroline Felício Braga
Ricardo Nascimento Drozino
Neide Martins Moreira
Silvana Marques de Araújo**

Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá. Av.
Colombo, nº 5790, CEP: 87020-900. Maringá (PR).

Introdução

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*, um parasito intracelular obrigatório com ampla distribuição geográfica e alta prevalência sorológica mundial (Oréfice, 2005). Neste sentido, a busca de um medicamento eficaz, com ausência de efeitos colaterais e de baixo custo, torna-se essencial na prevenção ou diminuição de danos da toxoplasmose com consequente redução de prejuízos econômicos e comerciais.

Materiais e Métodos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá (Parecer nº. 109/2011). Comparou-se em ensaio cego, controlado, randomizado por sorteio, o efeito de diferentes diluições de bioterápicos de *T. gondii*. Para os ensaios, 56 camundongos machos, Swiss, 60 dias, foram distribuídos em grupos segundo o tratamento: BIOT-TG7, BIOT-TG17, BIOT-TG30, BIOT-TG60, BIOT-TG100, BIOT-TG200, GCInf - grupo controle infectado tratado com álcool de cereais 7% e GCN - grupo controle não infectado e não tratado. Os bioterápicos foram produzidos segundo a Farmacopéia Homeopática Brasileira, com macerado de cérebro de camundongos (20 cistos *T. gondii*/100µL). Os animais receberam tratamento por três dias consecutivos antes da infecção. Para os grupos BIOT-TG7, BIOT-TG17, BIOT-TG30 E BIOT-TG60 e GCInf administrou-se 0,1mL/4X/dia, no primeiro dia e 2X/dia nos demais dias de tratamento. Para BIOT-TG100 e, BIOT-TG200 foi utilizado 0,1mL/dose única/dia. Aos 60 dias os animais foram infectados (20 cistos cepa ME49 - *T. gondii*) via oral. Foram realizadas fundoscopia e tonometria ocular aos 55 dias pós-infecção. Sessenta dias após a infecção foi dosado TGF- β sérico (ELISA). Os parâmetros avaliados foram comparados, entre os grupos, utilizando o programa *BioEstat 5.0* (Manaus-Brasil) com o teste Kruskal-Wallis com 5% de significância.

Resultados e Discussão

Na tonometria não houve diferença significativa entre o grupo controle e os demais grupos, sendo que a pressão (expressos em média $\pm$ desvio-padrão) observada para os diferentes grupos foi: GCN (10,3 $\pm$ 4,0mmHg), GCinf (8,9 $\pm$ 3,8mmHg), BIOT-TG7 (5,0 $\pm$ 1,0mmHg), BIOT-TG17 (7,1 $\pm$ 0,9mmHg), BIOT-TG30 (9,8 $\pm$ 4,5mmHg), BIOT-TG60 (5,0 $\pm$ 0,9mmHg), BIOT-TG100 (8,6 $\pm$ 5,2mmHg) e BIOT-TG200 (8,0 $\pm$ 2,6 mmHg). Com relação à fundoscopia ocular (Tabela 1), verificou-se que 80% dos animais do grupo BIOT-TG100 não apresentaram alterações e 20% apresentaram hemorragia sub-retiniana discreta em volta do nervo óptico. O grupo BIOT-TG7 apresentou 16,66% dos animais com uveíte

severa. O grupo BIOT-TG30 apresentou 33,3% de uveíte severa e 33,3% de hemorragia intensa.

Tabela 1. Alterações fundoscópicas observadas nos diferentes grupos após 55 dias de infecção com cistos de *Toxoplasma gondii*, cepa ME49.

Parâmetros	BIOT-TG7	BIOT-TG17	BIOT-TG30	BIOT-TG60	BIOT-TG100	BIOT-TG200	GCInf	GCN
Hemorragia* Discreta (%)	0	25	0	40	20	50	42,86	0
Hemorragia* Intensa (%)	0	0	33,3	0	0	0	0	0
Uveíte Severa (%)	16,66	0	33,3	0	0	0	0	0
Sem Alterações (%)	83,33	75	50	60	80	50	57,14	100

*Sub-retiniana em volta do nervo óptico

Os níveis de $TGF-\beta$ foram diferentes entre os grupos. Animais dos grupos BIOT-TG17 e BIOT-TG200 apresentaram diminuição ($p < 0,01$) da concentração dos níveis de $TGF-\beta$ em relação ao grupo BIOT-TG100 (Figura 1). Apesar de não terem sido observadas diferenças significativas entre os grupos na tonometria ocular, todos os grupos infectados apresentaram diminuições da pressão intra-ocular (PIO) comparados ao grupo controle sadio. Em relação à análise fundoscópica, todos os grupos apresentaram lesões retinianas sugestivas de toxoplasmose ocular, porém o grupo BIOT-TG100 foi o que melhor preveniu os efeitos da toxoplasmose ocular.

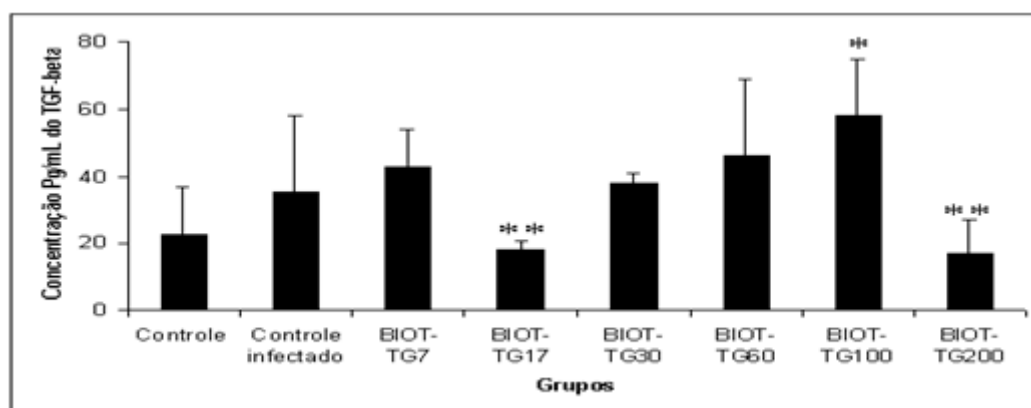


Figura 1. Concentração sérica do $TGF-\beta$ nos diferentes grupos experimentais. Os valores estão expressos como média $\pm$ desvio-padrão. ($p < 0,01$).

Diante da tentativa de homeostase, apesar de não terem sido observadas diferenças com o grupo GCN, os grupos BIOT-TG17 e BIOT-TG200 demonstraram tendência à diminuição dos níveis de $TGF-\beta$. Sandri (2011), descreve que animais tratados com bioterápicos de *T. cruzi* 17 DH apresentaram níveis de $TGF-\beta$ diminuídos em relação ao controle, evidenciando assim, uma tentativa do hospedeiro de diminuir os danos decorrentes da infecção e replicação de *T. cruzi*. Os mecanismos envolvidos na imunomodulação por medicamentos altamente diluídos ainda não foram elucidados (Elia et al., 2007) e desta forma,

reforça-se a importância de aprofundamento do uso de bioterápicos e seus efeitos na relação entre o parasito e o hospedeiro.

Referências Bibliográficas

ELIA, V.; NAPOLI, E.; GERMANO, R. The “Memory of Water”: an almostdeciphered enigma. Dissipative structures in extremely dilute aqueoussolutions. **Br. Homeopathy J.**, v. 96, p. 163-169, 2007.

ORÉFICE, F.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. Toxoplasmose. *In*: ORÉFICE, F. **Uveíte Clínica e Cirúrgica: texto e atlas**. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2005, p.451-59.

SANDRI, P. F. **Efeitos do bioterápico 17DH na infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em camundongos de diferentes idades**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia - UEM. 2011.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA HANSENÍASE NA POPULAÇÃO ATENDIDA PELO LABORATÓRIO DE ENSINO E PESQUISA EM ANÁLISES CLÍNICAS (LEPAC)

Luciana Dias Ghiraldi Lopes
Jean Eduardo Meneguello
Paula Aline Zanetti Campanerut-Sá
Sonia Aparecida Sgarioni, Rubia Pazzetto
Rosilene Fressatti Cardoso

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina,
Laboratório de Bacteriologia Médica. Av. Colombo, nº 5790, CEP: 87020-900,
Maringá (PR). email: jan.meneguello@gmail.com

Introdução

A hanseníase (HA) é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, uma micobactéria intracelular obrigatória, transmitida diretamente de uma pessoa contaminada não tratada para outra, por meio das vias aéreas superiores. Essa doença possui longo período de incubação e afeta principalmente a pele e os nervos da face, mãos, pernas e pés, mas um amplo espectro de manifestações clínicas pode estar presentes.

O tratamento da hanseníase é realizado nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) utilizando o esquema poliquimioterápico padronizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que evita a evolução da doença, prevenindo as incapacidades e deformidades por ela causadas, levando à cura.

Segundo a OMS, o Brasil é o segundo país do mundo com maior número de casos de hanseníase. Em 2011, o país registrou cerca de 34 mil novos casos da doença, correspondendo a um coeficiente de detecção de 17,6/100 mil habitantes. Neste mesmo ano a taxa de cura foi de 81,6%. Apesar da queda de aproximadamente 15% na incidência de casos novos da doença nos últimos 10 anos, a HA ainda é considerada um problema de saúde pública no Brasil. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar aspectos epidemiológicos da HA em paciente atendidos pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC-UEM), no período de cinco anos.

Materiais e métodos

O diagnóstico laboratorial da HA foi realizado pela baciloscopia da linfa. A coleta das amostras e o exame baciloscópico foram realizados como preconizado pelo Ministério da Saúde.

Os resultados da baciloscopia foram coletados no período de janeiro de 2008 a dezembro de 2012. As variáveis coletadas foram sexo, faixa etária e situação clínica (diagnóstico ou controle de tratamento).

Resultados

No período de janeiro de 2008 a dezembro de 2012 foram realizados 1000 baciloscopias para diagnóstico de HA no LEPAC-UEM. Dentre estes, 203 (20,3%) exames tiveram resultado positivo e 797 (79,7%) resultado negativo.

Dos 203 exames positivos, 73 (36%) eram do sexo feminino e 130 (64%) do sexo masculino.

Segundo a faixa etária, os resultados positivos tiveram a seguinte distribuição: 5 casos entre 0 e 19 anos, 36 casos entre 20 e 39 anos, 84 casos entre 40 e 59 anos e 70 casos entre 60 e 92 anos, sendo que em 8 exames não foi informada a idade do paciente.

Houve diferença significativa ($p < 0,001$) apenas para a variável sexo, demonstrando a maior relação da HA com o sexo masculino.

Conclusão

Conclui-se que nos exames realizados pelo LEPAC-UEM, no período de 2008 a 2012, a HA assumiu características semelhantes a outros estudos, nos quais os casos de HA estavam relacionados com o sexo do paciente e baixa incidência na população de 0-19 anos, indicando que as medidas de controle e prevenção da doença estão atingindo a população.

Referências Bibliográficas

MINISTERIO Da SAÚDE. **Hanseníase.** disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/gve_7ed_web_atual_hansenia.pdf).

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Baciloscopia em hanseníase.** Guia de procedimentos técnicos. Brasília (DF). 2010.

NUNES, J.M.; OLIVEIRA, E. N.; CUNHA N. F. Ter hanseníase: percepções de pessoas em tratamento. **Rev. Rene**, v. 9, n. 4, p. 99-106, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Leprosy Situation**, v. 34, n. 87, p. 317-328, 2012. Disponível em: <http://www.who.int/wer>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global strategy for further reducing the leprosy burden and sustaining leprosy control activities 2006-2010. Operational guidelines. Regional Office for South-East Asia New Delhi. **Lepr. Rev.**, v. 77, n. 3, p. 1-50, 2006.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

**PADRONIZAÇÃO DA OBTENÇÃO DE GÉIS POR ELETROFORESE
BIDIMENSIONAL PARA ANÁLISE PROTEÔMICA
DE *Mycobacterium tuberculosis***

**Paula Aline Zanetti Campanerut-Sá
Luciana Dias Ghiraldi-Lopes
Jean Eduardo Meneguello
Adriana Fiorini
Rosilene Fressatti Cardoso**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina,
Laboratório de Bacteriologia Médica. Av. Colombo, nº 5790, CEP: 87020-900,
Maringá (PR). e-mail: jan.meneguello@gmail.com

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infecto-contagiosa conhecida há séculos, e quase foi erradicada em países desenvolvidos com estratégias eficientes de combate à doença. Porém, a TB continua sendo um importante problema de saúde pública que ressurge no mundo, principalmente em países em desenvolvimento.

O tratamento recomendado para casos novos de TB consiste no uso, por dois meses, de isoniazida (INH), rifampicina (RMP), etambutol (ETB) e pirazinamida (PZA), seguido de quatro meses com INH e RMP. Apesar desse tratamento ter sido instituído há vários anos, ainda não se conhece totalmente a forma de ação destes medicamentos.

Em uma célula viva, a maioria das atividades é realizada por proteínas. Quando se quer avaliar as vias do metabolismo celular envolvido na ação de um medicamento se faz necessário analisar o proteoma, ou seja, a composição de todas as proteínas expressas pelo genoma de um organismo.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi padronizar a obtenção de géis por eletroforese bidimensional (2D) para análise proteômica de *Mycobacterium tuberculosis*.

Materiais e Métodos

Uma cultura com 15 dias de crescimento de *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27294 em meio líquido Middlebrook 7H9 (Difco, Detroit, MI, USA) acrescido de suplemento OADC foi utilizada para a extração de proteínas.

Para a extração foi utilizado tampão de lise composto por uréia (7M), tiouréia (2M), CHAPS (4%), DTT (50mM) e sonificador. A quantificação das proteínas foi realizada pelo método de Bradford e, em seguida, a amostra foi submetida ao tratamento de limpeza pelo 2D Clean-up kit (GE Healthcare Life Sciences), conforme instruções do fabricante.

A primeira dimensão da eletroforese foi realizada em tiras para focalização (Immobiline Drystrip pH 3-10, GE Healthcare) em equipamento Ettan IPGphor 3 (GE Healthcare). A segunda dimensão foi realizada em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) 12,5 %, em sistema SE 600 Ruby (GE Healthcare).

Os géis foram, então, corados pela coloração Coomassie Blue G-250 e foto-documentados. Todos os procedimentos foram realizados em duplicata.

Resultados

Os géis foram realizados em duplicata e apresentaram alto nível de semelhança. Os géis obtidos apresentaram excelente separação eletroforética dos *spots* de proteínas quando comparado com outros géis para estudos proteômicos em *M. tuberculosis*, publicados na literatura pertinente.

Conclusão

Os resultados demonstram que, as condições de extração de proteínas de *M. tuberculosis* e de eletroforese bidimensional, a que foram submetidas em nosso laboratório, mostraram-se adequadas para obtenção de géis 2D e serão utilizados para análises posteriores de identificação de proteínas por MALDI-TOFF.

Referências Bibliográficas

SHARMA, P.; KUMAR, B.; GUPTA, Y.; SINGHAL, N.; KATOCH, V.M.; VENKATESAN, K.; BISHT, D. Proteomic analysis of streptomycin resistant and sensitive clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. **Proteome Science**, v. 8, n. 59, p.1-11, 2010.

SHARMA, P.; KUMAR, B.; SINGHAL, N.; KATOCH, V. M.; VENKATESAN, K.; CHAUHAN, D.S.; BISHT, D. Streptomycin induced protein expression analysis in *Mycobacterium tuberculosis* by two-dimensional gel electrophoresis & mass spectrometry. **Indian J Med Res.**, v. 132, p. 400-408, 2010.

SHEN, H.; YANG, E.; WANG, F.; JIN, R; XU, S.; HUANG, Q.; WANG, H. Altered Protein Expression Patterns of *Mycobacterium tuberculosis* Induced by ATB107. **J. Microbiol.**, v. 48, n. 3, p. 337-346, 2010.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).

SUSCETIBILIDADE DOS NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DO JEJUNO DE RATOS SUBMETIDOS À INGESTÃO DO ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO

**Guilherme Vechiatto
Andressa Cristina Damim
Nathália Alves Diamante
Sandra Regina Stabille
Aline Aparecida Ribeiro
Ricardo de Melo Germano**

Universidade Paranaense. Unidade de Paranavaí. Laboratório de Morfofisiologia do Aparelho Digestório. Avenida Huberto Bruning, nº 360, Paranavaí (PR), CEP: 87706-140.
e-mail: guilherme_vechiatto@hotmail.com

Introdução

O uso exagerado e inadequado de agentes químicos na produção vegetal, dentre eles os herbicidas, tem se tornado considerando os danos e benefícios que ocasionam, uma vez que geram um alto impacto ecotoxicológico (Amarante-Junior, 2002).

Um dos clorofenoxiherbicidas mais utilizados no controle de pragas em plantações é o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), um herbicida sistêmico que interfere no crescimento de ervas de folhas largas anuais e algumas perenes (Bjorling-Poulsen et al., 2008).

A exposição de seres humanos e outros animais ao 2,4-D podem ocorrer através do ar, água, solo, alimentos contaminados ou ainda durante o manuseio, transporte e aplicação do mesmo (Aydin e Uzunoren, 2005). Entre as manifestações de intoxicação por 2,4-D encontram-se anorexia, irritação gastrointestinal, náuseas, vômitos e diarreia (EPA, 1987), por isso, é de se esperar que ele atue sobre os neurônios do Sistema Nervoso Entérico (SNE) que, com seus plexos mioentérico e submucoso, estão envolvido nos mecanismos da digestão e absorção de nutrientes, controlando a motricidade, o fluxo sanguíneo e as secreções do tubo gastrointestinal (Phillips e Powley, 2007).

Esse estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da administração de 2,4-D sobre os aspectos quantitativos da população total de neurônios mioentéricos do jejuno de ratos Wistar.

Materiais e Métodos

Dez ratos machos Wistar de 60 dias de idade foram distribuídos em dois grupos (n=5/grupo): grupo controle (GC) animais que não receberam 2,4-D, e grupo experimental (GE), composto por animais que foram submetidos à ingestão de 5mg de 2,4-D/kg por 60 dias. Ao final do período experimental os animais dos dois grupos foram eutanasiados por superexposição ao anestésico inalatório Isoflurano (Vetflurano®). O jejuno dos animais foi coletado, fixado e microdissecado para obtenção de preparados de membrana, e após, processados para a técnica de Giemsa para evidênciação da população total de neurônios entéricos. Em microscopia de luz e analisador de imagens foram quantificados neurônios presentes em 80 campos microscópicos por preparado de membrana de cada animal.

A normalidade dos dados foi testada usando o teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão e comparados usando-se o teste t de Tukey (dados com distribuição normal). O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

Resultados

No grupo controle (GC) a densidade neuronal, marcada pela técnica de Giemsa, foi superior à densidade neuronal do grupo experimental (GE), com nível de significância de 5% (Tabela 1).

Tabela 1. Média e desvio padrão da densidade de neurônios mioentéricos do jejuno de ratos Wistar do grupo controle (GC) e experimental tratado com 2,4-D (GE).

Grupos	Densidade Neuronal (7,68 mm ²)	Densidade Neuronal (mm ²)
GC (n=5)	1032 ± 16,99*	134,37 ± 2,21*
GE (n=5)	693,4 ± 95,7*	90,28 ± 12,46*

Valores marcados por asterisco (*) na mesma coluna diferem (p<0,05) entre os grupos

A diminuição na quantidade da população total de neurônios já foi mencionada ao longo do envelhecimento (GAGLIARDO et al., 2008) e para algumas condições experimentais, como o diabetes (FREGONESI et al., 2001) e desnutrição (NATALI e MIRANDA-NETO, 1996), evidenciando a suscetibilidade destes neurônios às condições adversas da saúde.

O mecanismo envolvido no comprometimento do plexo mioentérico nas referidas situações, apesar de não estarem totalmente esclarecidos, tem sido atribuído ao estresse oxidativo (KYVENHOVEN e MEINDERS, 1999) e à redução da eficácia dos sistemas antioxidantes (BAYNES, 1991). O estresse pode ser amplificado e propagado por um ciclo auto-catalítico de estresse metabólico levando à morte celular com aumento de espécies reativas de oxigênio e diminuição dos sistemas antioxidantes (BAYNES, 1991).

Conclusões

Nas condições em que o experimento foi conduzido, podemos concluir que o 2,4-D, quando administrado na dose de 5mg/kg de peso corpóreo durante 60 dias, influenciou os neurônios do plexo mioentérico do jejuno de ratos, levando a uma alteração manifestada pela diminuição da sua densidade, podendo ser indício de morte celular, uma vez que a técnica utilizada marca população total dos neurônios mioentéricos.

Referências Bibliográficas

- AMARANTE-JUNIOR, O. P. Revisão das propriedades, usos e legislação do ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D). **Cad. Pesq.**, v. 13, n. 1, p. 60-70, 2002.
- AYDIN, H. N.; UZUNOREN, N. Investigation of the accumulation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rats kidneys. **Forensic Sci. Inter.**, v. 153, p. 53-57, 2005.
- BAYNES, J. W. Role of oxidative stress in development of complication in diabetes. **Diabetes**, v. 40, p. 405-412, 1991.
- BJORLING-POULSEN, M.; ANDERSON, H. R.; GRANDJEAN, P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in **Eur. Environ. Health**, v. 7, p. 1-50, 2008.
- EPA - United States Environmental Protection Agency. **The risk assessment guidelines of 1986**. Office of health and environmental assessment. Washington, DC. EPA/600/8-87/045. 1987.

FREGONESI, C. E. P. T.; MIRANDA-NETO, M. H.; MOLINARI, S. L.; ZANONI, J. N. Quantitative study of the myenteric plexus of the stomach of rats with streptozotocin induced diabetes. **Arq. Neuro-psiquiatr.**, v. 59, p. 50-53, 2001.

GAGLIARDO, K.M. et al. Exercise reduces inhibitory neuroactivity and protects myenteric neurons from age-related neurodegeneration. **Auton Neurosci-Basic.**, v. 141, p. 31-37, 2008.

KYVENHOVEN, J. P.; MEINDERS, S. A. E. Oxidative stress and diabetes mellitus – pathogenesis of long-term complications. **Europ. J. Int. Med.**, v. 10, n.1, p. 9-19, 1999.

NATALI, M. R. M.; MIRANDA-NETO, M. H. Effects of maternal proteic undernutrition on the neurons of the myenteric plexus of duodenum of rats. **Arq. Neuro-psiquiatr.**, v. 54, n. 2, p. 273-279, 1996.

PHILLIPS, R. J.; POWLEY, T. L. Aging of the myenteric plexus: neuronal loss is specific to cholinergic neurons. **Auton Neurosci-Basic.**, v.106, n. 2, p. 69-83, 2007.



Resumo expandido apresentado no
XIV Encontro Maringaense de Biologia e XXVII Semana de Biologia
05 a 09 de agosto de 2013
Maringá (PR).