

O ciclo biológico do *Trypanosoma cruzi* envolve a passagem obrigatória em dois hospedeiros: um inseto vetor e um hospedeiro vertebrado mamífero. No inseto, formas epimastigotas se diferenciam em formas tripomastigotas metacíclicas (metaciclo-gênese). Nesse trabalho, utilizamos a técnica de Representação Diferencial da Expressão para isolar um gene, denominado de *TcImp4*, cuja expressão é regulada durante a metaciclo-gênese. *TcImp4* codifica um mRNA de 1,2 kb, detectado na fração de RNA polisomal das formas epimastigotas e de epimastigotas aderidos, mas não na fração de RNA polisomal das formas metacíclicas, embora seja detectado como RNA total nas três formas. Esse dado sugere que nas formas epimastigotas e epimastigotas aderidos, a expressão do gene *TcImp4* é dependente da mobilização do seu mRNA na forma de polissomos, enquanto que em tripomastigotas metacíclicas o mRNA, embora presente, não está mobilizado e portanto não é traduzido. De fato, a análise por Western blot mostra que a proteína *TcImp4* não é detectada em tripomastigotas metacíclicas. A seqüência de aminoácidos deduzida a partir do gene *TcImp4* mostra similaridade significativa com a proteína *Imp4* de levedura, um componente do complexo U3snRNP, que atua no processamento do rRNA 18S, sugerindo que *TcImp4* possa ter a mesma função em *T. cruzi*. Imunoelctromicroscopia mostra que anticorpo contra *TcImp4* marca a região perinucleolar de epimastigotas. Assim, a ausência de *TcImp4* em tripomastigotas metacíclicas pode ser parte de um mecanismo de repressão gênica, atuando sobre o processamento de rRNA, levando à redução na produção de ribossomos com conseqüente redução dos níveis de RNA polisomal e síntese protéica.

Situação do trabalho: Submetido para publicação

Termos FIOCRUZ:

Termo(s): biologia molecular
Qualificador(es): parasitologia
Pré-codificado(s): humano

Classificação do trabalho na Tabela de Áreas do Conhecimento no CNPq:

Grande Área: Ciências Biológicas
Área: Parasitologia
Sub-área: Protozoologia de Parasitos
Especialidade: Protozoologia Parasitária Humana

Apoios: PRONEX; PADCT; CNPq

Detecção de antígenos de *Giardia intestinalis* em coprólitos com uso de teste diagnóstico comercial.

Título em inglês: Detection of *Giardia intestinalis*

Autor: GONÇALVES, Marcelo Luiz C.
Vínculo: Bolsista CNPq
Unidade: ENSP
Departamento: Ciências Biológicas
Laboratório: Laboratório de Paleoparasitologia

Co-autores: ARAÚJO, Adauto José G., FERREIRA, Luiz Fernando, DUARTE, Rosemere, SILVA, Joaquim P. da, ANDRADE, Carlos M. de

Introdução/Justificativa

Este experimento teve por objetivo testar o uso de teste de diagnóstico imunológico (ELISA) para detectar a infecção por *Giardia intestinalis* em vestígios arqueológicos humanos. Os protozoários não se encontram facilmente em material arqueológico com uso da microscopia convencional. Neste artigo tentamos uma nova forma de diagnóstico de infecções por protozoários em populações pré-históricas.

Metodologia

O kit, ensaio por anticorpos monoclonais, é usado para detectar a presença do antígeno 65 (GSA65) específico para *Giardia*, em fezes humanas. Neste teste, foi aplicado em material fecal humano antigo. O material incluiu fezes dessecadas encontradas em múmias ou sítios arqueológicos, tanto coletadas de sedimentos como de latrinas. Foi testado o total de 83 espécimens, previamente examinados à microscopia para parasitos. As amostras são provenientes de sítios arqueológicos do Novo e do Velho Mundo.

Resultados e Discussão

O teste detectou 3 amostras positivas, datadas cerca de 1200 AD (Anno Domini), 1600 AD e 1700 AD. O teste de ELISA foi superior à observação direta. Foi possível identificar cistos de *Giardia intestinalis* à microscopia em somente uma das amostras. Os resultados não mostraram reação cruzada entre este protozoário e helmintos. O uso do teste de ELISA contribui para o diagnóstico de infecção por *G. intestinalis* em restos humanos do passado.

Resumo em inglês:

Introduction

The objective of this experiment was to assess the utility of a commercially available enzyme immunoassay (ELISA) kit for diagnosis of giardiasis in archaeological human remains. Protozoa are not easily found in archaeological material through standard microscopical analysis. In this paper we have tried a new approach to diagnose protozoal infections in prehistoric populations.

Material & Methods

The kit, a monoclonal antibody assay, is used to detect the presence of *Giardia* Specific Antigen 65 (GSA65) in

in mummies or in archaeological sites and sediments from latrines. A total of 83 specimens, previously examined microscopically for parasites were examined. Samples were collected from New and Old World archaeological sites.

Results & Discussion

The ELISA detected 3 positive samples, dated to about 1200 Anno Domini (AD), 1600 AD and 1700 AD. The ELISA was superior to direct observation. It was possible to identify *Giardia duodenalis* cysts by direct microscopy in only one of these samples. The results did not show cross reactivity between this protozoa and helminths. The use of ELISA to detect *G. duodenalis* coproantigen could help the diagnosis of giardiasis in ancient human remains.

Situação do trabalho: Publicado, publicado em: Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (in press)

Termos FIOCRUZ:

Termo(s): paleoparasitologia
Qualificador(es): parasitologia
Pré-codificado(s): história da medicina

Classificação do trabalho na Tabela de Áreas do Conhecimento no CNPq:

Grande Área: Ciências Biológicas
Área: Parasitologia
Sub-área: Protozoologia de Parasitos
Especialidade: Protozoologia Parasitária Humana

Apoios: CAPES; CNPq; Fiocruz

Vacinação com *Leishmania (L.) major* atenuada e inativada contra leishmaniose cutânea no modelo Rhesus (*Macaca mulatta*)

Título em inglês: Vaccine trials using attenuated and killed *Leishmania (L.) major* parasites in a primate model of cutaneous leishmaniasis

Autor: GRIMALDI, Gabriel
Vínculo: Pesquisador
Unidade: IOC
Departamento: Imunologia
Laboratório: Pesquisas em leishmanioses

Co-autores: AMARAL, Verônica F., TEVA, Antonio, PORROZZI, Renato, CUPOLILLO, Elisa

Nesse estudo, comparamos a eficácia das vacinas *L. (L.) major* atenuada (mutante dhfr-ts-) e inativada (parasitas mortos + BCG) em proteger macacos rhesus contra desafio com *L. (L.) major* virulenta. Resposta específica aos testes in vitro de proliferação de linfócitos

T foi detectada em elevada proporção nos grupos vacinados com parasita atenuado (79% dos animais) ou morto (75%). Em contraste, nenhum dos macacos testados apresentou aumento significativo de IFN-g ou conversão positiva na resposta DTH antes do desafio. A vacinação não induziu imunidade protetora, desde que todos os animais (vacinados e controles) desenvolveram LC após desafio homólogo. Concluímos que outros esquemas devam ser testados visando tornar eficaz o uso destas vacinas.

Resumo em inglês:

We have compared the efficacy of two *Leishmania (L.) major* vaccines, one genetically attenuated [DHFR-TS deficient organisms], the other inactivated [autoclaved promastigotes (ALM) with bacillus Calmete-Guérin (BCG)], in protecting rhesus macaques (*Macaca mulatta*) against infection with virulent *L. (L.) major*. Positive antigen-specific recall proliferative response was observed in vaccinees (79% in attenuated parasite-vaccinated monkeys, versus 75% in ALM-plus-BCG-vaccinated animals), although none of these animals exhibited either augmented in vitro gamma interferon (IFN-g) production or positive delayed-type hypersensitivity (DTH) response to the leishmanin skin test prior to the challenge. Following challenge, there were significant differences in blastogenic responses ($p < 0.05$) between attenuated-vaccinated monkeys and naïve controls. In both vaccinated groups very low levels of antibody were found before challenge, which increased after infective challenge. Protective immunity did not follow vaccination, in that monkeys exhibited skin lesion at the site of challenge in all the groups. The most positive result was in fact the lack of pathogenicity of the attenuated parasite, which persisted in infected animals for up to 3 months, but they were incapable of causing disease under the conditions employed. We concluded that both vaccine protocols used in this study are safe in primates, but require further improvement for vaccine application.

Situação do trabalho: Publicado, publicado em: outubro 2002

Termos FIOCRUZ:

Termo(s): leishmania major
Qualificador(es): imunologia
Pré-codificado(s): animal

Classificação do trabalho na Tabela de Áreas do Conhecimento no CNPq:

Grande Área: Ciências Biológicas
Área: Parasitologia
Sub-área: Protozoologia de Parasitos
Especialidade: Protozoologia Parasitária Humana

Apoios: Fiocruz; FAPERJ; OMS-TDR