

## Association of mannose-binding lectin (MBL) polymorphism and serum levels in patients infected with dengue virus

Rodrigo Feliciano do Carmo, Vanessa Teixeira, Carla Mola, Paulo Neves Baptista, Marli Tenório Cordeiro, Herika K. N. Brito, Ana Raquel S. Alencar, José Sérgio Silva, Patrícia Moura

Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco; Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Pernambuco; Instituto do Fígado de Pernambuco; Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fiocruz – Pernambuco, Brasil

**Background and Aims:** Dengue fever (DF), a prevalent disease in tropical and subtropical regions of the world, has become one of the most important arthropod-borne viral diseases. Infected individuals can develop the classical dengue fever, a self-limited illness characterized by fever, headache, myalgia, arthralgia, and abdominal pain, or the DF can progress to dengue hemorrhagic fever (DHF), frequently associated with thrombocytopenia, vascular leakage, hemorrhage, and hypovolemic shock. Host genetic factors may be related to the development of severe illness. Mannose-binding lectin (MBL) is a molecule of the innate immunity able to activate the complement system and modulate the inflammation. Genetic polymorphism in the exon 1 of MBL2 gene has been associated with increased susceptibility to infections and disease progression in many diseases. Our aim was to investigate the polymorphism of exon 1 and serum levels of the MBL in patients with DF and DHF. **Methods:** A total of 232 individuals attended at the Hospital Universitário Oswaldo Cruz (PE/Brazil) during the epidemic of dengue in 2010 were classified as dengue fever (DF) and dengue hemorrhagic fever (DHF) or dengue fever with complications (DFC). MBL serum levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Genomic DNA was extracted from peripheral blood and genotyping of the exon 1 was performed by melting temperature assay in a sample of 115 patients. **Results:** A total of 116 individuals were diagnosed with classical dengue fever, 68 with dengue fever complicated (DFC) and 48 with DHF. The exon 1 MBL2 genotypes were statistically associated with the serum levels AA (mean = 3,726 ng/mL), AO (mean = 883 ng/mL) and OO (mean = 16 ng/mL) ( $p < 0.0001$ ). The MBL serum levels were not statistically different between the groups (DF vs DFC+DHF;  $p = n.s$ ). The frequency of the genotypes AO/OO, associated with low levels of MBL, were higher in the DFC+DHF group compared with the classical dengue fever group (42.2% vs 31.4%;  $p = n.s$ ). **Conclusion:** Our findings showed a strong association between the MBL2 exon 1 genotypes with the serum levels of MBL. The MBL is an important molecule in the modulation of inflammation and its genetic polymorphism could be associated with the development of more severe disease in dengue fever. Although we did not find a significant association these results lead us to further investigate a more representative sample of patients to establish a final conclusion.

## Análise quantitativa da expressão de RNAs mensageiro (mRNAs) de citocinas inflamatórias no líquido pleural de pacientes com suspeita de tuberculose pleural (TBP)

Valdes Roberto Bollela, Danillo Lucas Espósito, Ana Luisa Pereira Feitosa, Marcos de Carvalho Borges, Benedito Antonio Lopes da Fonseca  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

**Justificativa:** A tuberculose pleural (TBP) é a forma mais comum de tuberculose extrapulmonar, e seu diagnóstico continua sendo um grande desafio. Existem poucos estudos avaliando os testes que quantificam mediadores da resposta celular no diagnóstico da TBP. A detecção do IFN- $\gamma$  tem mostrado um bom desempenho, melhor até que os métodos de amplificação de ácidos nucleicos. O objetivo deste estudo é avaliar o perfil da expressão gênica de 19 citocinas que determinam os padrões Th1 e Th2 da resposta imune celular, bem como a pesquisa do *M. tuberculosis* em amostras de líquido pleural através de técnicas de biologia molecular. **Método:** Pacientes com derrame pleural sob investigação no Hospital das Clínicas da FMRP-USP, com indicação de toracocentese e/ou biópsia pleural para diagnóstico etiológico do derrame pleural, foram convidados a participar do estudo e incluídos após assinatura do termo de consentimento. **Amostras:** As análises celulares, bioquímicas e anatomopatológicas foram realizadas na rotina do hospital, enquanto uma alíquota do líquido pleural (50 mL) foi enviada rapidamente ao laboratório para extração de DNA e RNA totais das células presentes nessas amostras. Em seguida foi feita uma reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação do DNA do *M. tuberculosis* (diagnóstico) e a quantificação dos mRNAs que expressam as citocinas inflamatórias, através da qRT-PCR (PCR em tempo real). **Pacientes:** Todos os pacientes tiveram seus prontuários revisados para a análise e conclusão do caso à luz das informações clínicas, exames radiológicos, bioquímicos, histopatológicos e microbiológicos de rotina. Evolução clínica após tratamento específico para TBP também foi considerada na definição de caso. **Resultados:** Até o momento foram testadas amostras coletadas para a amplificação do *M. tuberculosis* e padronização da análise quantitativa da expressão de citocinas inflamatórias no líquido pleural de 11 indivíduos. Ao final desta fase foram efetivamente testados seis indivíduos, cinco caracterizados com tuberculose pleural e um controle (diagnóstico de pneumonia bacteriana complicada com derrame pleural). As demais amostras (cinco controles) não apresentaram amplificação ou continham contaminação com DNA genômico, e por isso foram excluídas das análises. Os resultados de amplificação observados mostraram que a maioria dos genes das citocinas testadas estavam induzidos em relação ao controle, com exceção da IL-6 e da IL-10. **Conclusões:** Este trabalho inova ao propor a detecção da expressão de genes de citocinas, em vez de dosá-las diretamente no líquido pleural. A expressão gênica das citocinas observada no líquido pleural mostrou predomínio de resposta imune Th1 e supressão das citocinas relacionadas ao padrão Th2 (IL-6 e IL-10).

## Análise da implantação do teste rápido para detecção de leishmaniose visceral (Kalazar-Detect TM) em um grande município - experiência de Belo Horizonte, 2010

Alexandre Sampaio Moura, Helen Maria Ramos de Oliveira Lopes  
Secretaria Municipal de Saúde, Prefeitura de Belo Horizonte, Hospital Eduardo de Menezes - FHEMIG

**Justificativa:** Em Belo Horizonte, MG, a leishmaniose visceral (LV) apresenta padrão de transmissão urbano e, dada sua incidência e alta letalidade, constitui-se em uma das endemias mais importantes. Visando estimular a detecção precoce do agravo, foi implantado em 2010 o teste imunocromatográfico rápido rK39 (TR) para diagnóstico de LV nas Unidades de Pronto-Atendimento (UPA) de Belo Horizonte e em três hospitais de referência. **Objetivo:** Avaliar a concordância dos resultados de TR em relação ao teste convencional (reação de imunofluorescência indireta para LV - RIFI) no diagnóstico da LV, a adesão dos profissionais à solicitação do exame e sua utilidade, principalmente nas UPAs. **Metodologia:** Análise comparativa dos resultados do TR para LV (Kalazar-DetectTM) realizados em Belo Horizonte, de maio a dezembro de 2010, em três hospitais de referência e UPAs com os obtidos por meio da RIFI, utilizando o coeficiente  $\kappa$ . O material coletado de pacientes com suspeita clínica de LV foi analisado por meio do TR na unidade de atendimento e enviado para a Fundação Ezequiel Dias (FUNED) para realização da RIFI. Os resultados de RIFI foram considerados positivos quando títulos eram iguais ou superiores a 1:80. Análise comparativa do resultados do TR com os casos notificados de LV obtido do SINAN. **Resultados:** No período estudado foram notificados em Belo Horizonte 454 casos suspeitos de LV, sendo 305 em serviços que dispõem do TR. Realizou-se TR em 264 destes 305 (87%) pacientes, dos quais 80 (30,3%) apresentaram resultados positivos. Duzentos e doze das 264 (80,3%) amostras foram enviadas para realização simultânea do RIFI. Das 63 amostras com TR positivo, 59 (93,6%) apresentaram resultado positivo na RIFI, e das 146 amostras negativas no TR enviadas, 86,3% apresentaram resultado negativo na RIFI ( $\kappa = 0.72$  (IC 95% 0.62-0.82)). Foram realizados 76 TR nas UPAs de um total de 65 notificações de LV no período, e o diagnóstico presuntivo de LV foi feito por meio do teste rápido em 22 dos 23 casos confirmados de LV do município cuja porta de entrada foi a UPA. **Conclusão:** O TR apresentou boa concordância com a RIFI e houve boa adesão dos profissionais à solicitação do exame. A utilização do teste rápido pode proporcionar o diagnóstico mais oportuno deste agravo já que este passa a ser feito com agilidade nas UPAs, que atuam como importante porta de entrada dos pacientes agudos de Belo Horizonte.