

VICTOR RAFAEL CASTILLO MERINO

**AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DE ENTEROPATÓGENOS EM CRIANÇAS
COM E SEM DIARRÉIA NA CIDADE DE SÃO PAULO, SP**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo
2012

VICTOR RAFAEL CASTILLO MERINO

**AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DE ENTEROPATÓGENOS EM CRIANÇAS
COM E SEM DIARRÉIA NA CIDADE DE SÃO PAULO, SP**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Mário Julio Avila-Campos

Co-orientador: Profa. Dra. Viviane Nakano

Versão original

São Paulo
2012

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Castillo Merino, Victor Rafael.

Avaliação quantitativa de enteropatógenos em crianças com e sem diarreia na Cidade de São Paulo, SP / Victor Rafael Castillo Merino. -- São Paulo, 2012.

Orientador: Mario Júlio Ávila Campos.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de pesquisa: Bacteriologia de Anaeróbios orais e intestinais.

Versão do título para o inglês: Quantitative analysis of enteropathogens in children with and without diarrhea in São Paulo City, SP.

1. Enteropatógenos 2. Diarreia 3. Crianças 4. Real Time-PCR
I. Campos, Mario Júlio Ávila II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia
III. Título.

ICB/SBIB0205/2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Victor Rafael Castillo Merino.

Título da Tese: Avaliação quantitativa de enteropatógenos em crianças com e sem diarreia na Cidade de São Paulo, SP.

Orientador(a): Prof. Dr. Mario Júlio Ávila Campos.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado(a)

Reprovado(a)

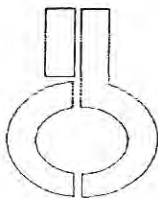
Examinador(a): Assinatura:
Nome completo:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome completo:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome completo:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome completo:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome completo:
Instituição:



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Amando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - cep. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (11) 3091.7733 telefax : (55) (11) 3091-7438
e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 17 de outubro de 2006.

PARECER 743/CEP

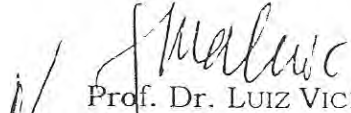
Prezado Senhor,

Atendendo sua solicitação, a *Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do ICB*, em 69ª Reunião realizada em 11.10.06, analisou o projeto de sua responsabilidade intitulado: "*Avaliação quantitativa de cepas enterotoxigências de bacteroides fragilis e dos respectivos subtipos do gene bft em crianças imunocompetentes com e sem diarreia aguda*".

Informo a V.Sa. que, após análise e discussão, o referido projeto foi **aprovado por esta Comissão**.

Esclareço a V.Sa. que dentro de 12 meses, relatório do referido projeto deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP.

Atenciosamente,


Prof. Dr. LUIZ VICENTE RIZZO
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB/USP

Ilmo. Sr.
VICTOR RAFAEL CAS TILLO MERINO
Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biomédicas - USP

*A meus pais, Hugo e Betty, pela educação de sempre,
pelas oportunidades e pela motivação constante;
a minha esposa Vanessa e a meus filhos Marina e Rafael
pela força decorrente de sua existência;
a meus irmãos pela aprovação permanente,
e a meus sogros pela compreensão e apoio.*

AGRADECIMENTOS

Sobre todas as coisas e todo ser, agradeço infinita e eternamente a Deus por dirigir e sustentar constantemente minha vida abençoando-me com realizações e valores, e aliviando as dificuldades encontradas no meu caminho.

Ao Prof. Dr. Mario Julio Avila-Campos pela oportunidade, incentivo, orientação e paciência no decorrer deste trabalho que sem duvida nenhuma traçou um novo perfil técnico e científico na minha vida.

A Profa. Dra. Viviane Nakano pela orientação, amizade e paciência incondicional a todo momento da pesquisa.

À Profa. Dra. Roxane Maria Fontes Piazza, do Laboratorio de Microbiologia do Instituto Butantã, ao Prof. Dr. Jacques Robert Nicoli, do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, à Profa. Dra. Juliana Pfrimer Falcão da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto, ao Prof. Dr. Sydney Finegold do Veterans Affairs L. A. Medical Center da Universidade da Califórnia e à Dra. Lynne M. Sloan da Clínica Mayo pelo fornecimento de cepas bacterianas padrão para o correto desenvolvimento da técnica molecular aplicada neste estudo.

Aos Hospitais Municipais Infantis, Menino Jesus e Candido Fontoura, e ao Departamento de Pediatria do Hospital Municipal do Tatuapé, a seus Diretores Técnicos e funcionários que colaboraram com a coleta de amostras fecais diarréicas de crianças internadas ou que visitaram o seus Pronto Atendimentos.

Ao Centro de Educação Infantil do Butantã (CEU Butantã), seus Diretores Educacionais, Professores e funcionários que possibilitaram a coleta de amostras de fezes de crianças regularmente inscritas no estabelecimento.

Aos pais e responsáveis das crianças dos Hospitais e do Centro de Educação Infantil Butantã que gentilmente aprovaram a coleta de amostras fecais de suas crianças para a realização do presente estudo.

À minha esposa que me apoiou decisivamente desde o início do trabalho, na coleta e transporte do material a todo momento do dia, e pela sua ilimitada compreensão e paciência perante o esforço diário dedicado à realização deste trabalho científico.

Ao Prof. Dr. Elerson Gaetti Jardim da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP) por sua amizade e permanente incentivo e disposição de colaborar à realização desta etapa da minha vida.

Ao amigo e colega de Pós-graduação Luis Antonio Llanco Albornoz pela sua amizade e apoio incondicional ao longo deste período de aprimoramento acadêmico e científico.

Aos colegas do Laboratório de Anaeróbios: Amanda, Alessandra, Fernando, Gerusa, Tais, Amelio, Luciano, Antonio, Alfredo, Carolina, Sheila, Viviane, Aline, Jaqueline, Jessica, Tania, Gisele, Zulmira, Marcia e aos colegas de Pós-graduação por sua motivação e amizade ao longo destes anos, e que direta ou indiretamente contribuíram com a maturação do raciocínio científico forjado na minha carreira profissional.

Aos Professores e funcionários do Departamento de Microbiologia pelo auxílio científico, intelectual, logístico e funcional recebidos no decorrer do doutoramento.

Aos funcionários do Serviço de Biblioteca do ICB responsáveis pela correção e formatação do trabalho escrito da presente pesquisa doutoral, assim como também a seus funcionários responsáveis pelo empréstimo de livros, material didático e documentação bibliográfica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa, pela bolsa (2007/03655-7) outorgada durante estes 4 anos de Doutorado.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

*“Procure ser uma pessoa de valor,
em vez de procurar ser uma pessoa de sucesso.
O sucesso é só consequência.”*

*“Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados,
capacita os escolhidos.
Só há duas maneiras de viver a vida:
a primeira é vivê-la como se os milagres
não existissem.
A segunda é vivê-la como se tudo fosse milagre.”*

Albert Einstein

RESUMO

MERINO, V. R. C. **Avaliação quantitativa de enteropatógenos em crianças com e sem diarreia na cidade de São Paulo, SP.** 2012. 99 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

A diarreia aguda é a segunda causa de morte em crianças < 5 anos em países emergentes. Anaeróbios estritos intestinais como *Bacteroides fragilis* enterotoxigênico e *Clostridium difficile* estão associados a este quadro infeccioso, assim como também, *Escherichia coli* diarreio gênica, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Yersinia enterocolitica*. Neste estudo, foi avaliada quantitativamente por PCR em Tempo Real a presença de enteropatógenos diretamente de amostras fecais de crianças com (110) e sem (150) diarreia. Entre as espécies ETBF o subtipo 1 (*bft-1*) foi o mais prevalente representando 90% dos casos diarreicos e 100% dos não diarreicos; o subtipo 3 (*bft-3*) foi detectado em apenas uma amostra fecal diarreica, enquanto que o subtipo 2 (*bft-2*) não foi detectado em nenhum dos grupos avaliados. *C. difficile* toxigênico foi detectado em 5,4% das amostras diarreicas e em 9,1% das não diarreicas em crianças menores de 2 anos de idade. Entre as espécies de *Escherichia coli* diarreio gênicas, EPEC/EHEC e EAEC foram as mais prevalentes em ambos os grupos: 33,6% e 27,2% no diarreico, e 14% e 26,6% no não diarreico, respectivamente. Todos os enteropatógenos avaliados foram detectados nas crianças com e sem diarreia, à exceção de *Salmonella* spp. e *Y. enterocolitica* que foram observados somente em fezes diarreicas. A maior parte dos enteropatógenos detectados pertenceram às amostras fecais de crianças de até 2 anos de idade mostrando uma relação estreita entre essas bactérias e os casos diarreicos ou não diarreicos. A presença de espécies EPEC/EHEC e de *Shigella* spp./EIEC mostraram valores estatisticamente significativos.

Palavras-chave: Enteropatógenos. Diarreia. Crianças. PCR Tempo Real.

ABSTRACT

MERINO, V. R. C. **Quantitative analysis of enteropathogens in children with and without diarrhea in São Paulo city, SP.** 2012. 99 p. Ph. D. thesis (Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Diarrhea is considered as major cause of mortality and morbidity in worldwide, achieving children < 5 years old, and it is the second cause of death in emerging countries. Intestinal anaerobes, such as enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* and *Clostridium difficile* are associated to acute diarrhea, as well as diarrheogenic *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Yersinia enterocolitica*. In this study, a quantitative evaluation of the presence of enteropathogens from fezes was performed. Stools from children with (110) and without (150) diarrhea were collected. Among ETBF species, subtype 1 (bft-1) was the most prevalent in diarrhea (90%) and of não diarrhe samples. Subtype 3 (bft-3) was detected only in one diarrhea specimen; subtype 2 (bft-2) was not detected in any of the fecal specimens. Toxigenic *C. difficile* was detected in 5.4% of diarrhea and in 9.1% of non-diarrhea specimens in children under 2 years old. *Escherichia coli* species, EPEC/EHEC and EAEC were the most prevalent in both groups: 33.6% and 27.2% in diarrhea and 14% and 26.6% in non-diarrhea samples, respectively. All the evaluated enteropathogens were detected in children with and without diarrhea, except *Salmonella* spp. and *Y. enterocolitica* that were only observed in diarrhea samples. Most of enteropathogens were detected from fecal specimens in children under 2 years old, showing a closely bacterial relationship in both groups. The presence of EPEH/EHEC and *Shigella* spp./EIEC showed statistically significant values.

Keywords: Enteropathogens. Diarrhea. Children. Real Time-PCR.

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

