

Avaliação do efeito citopático de *Acanthamoeba spp.* isoladas de lesões cutâneas e mucosa nasal de cães

Amanda Carvalho Ribeiro¹, Ana Maris Carlesso², Márcia Bohrer Mentz³, Marilise Brittes Rott⁴

1. Graduanda da faculdade de Farmácia 2. Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente 3. Professora pesquisadora, 4. Professora orientadora.



UFRGS
PROPEAQ

XXV SIC
Salão Iniciação Científica

CB - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO

Amebas de vida livre (AVL) do gênero *Acanthamoeba* (figura 1), um dos protozoários mais isolados da natureza, são ubiqüitárias no meio ambiente, apresentando grande importância ecológica. As AVL deste gênero causam infecções como ceratite amebiana (figura 2), uma infecção ocular grave e também encefalite amebiana granulomatosa (EAG) (figura 3), considerada uma infecção oportunista em indivíduos imunodeficientes. *Acanthamoeba spp.* já foram isoladas do sistema nervoso central (SNC) de vários animais, além de outros órgãos como pele, tireoide, coração, rins entre outros.

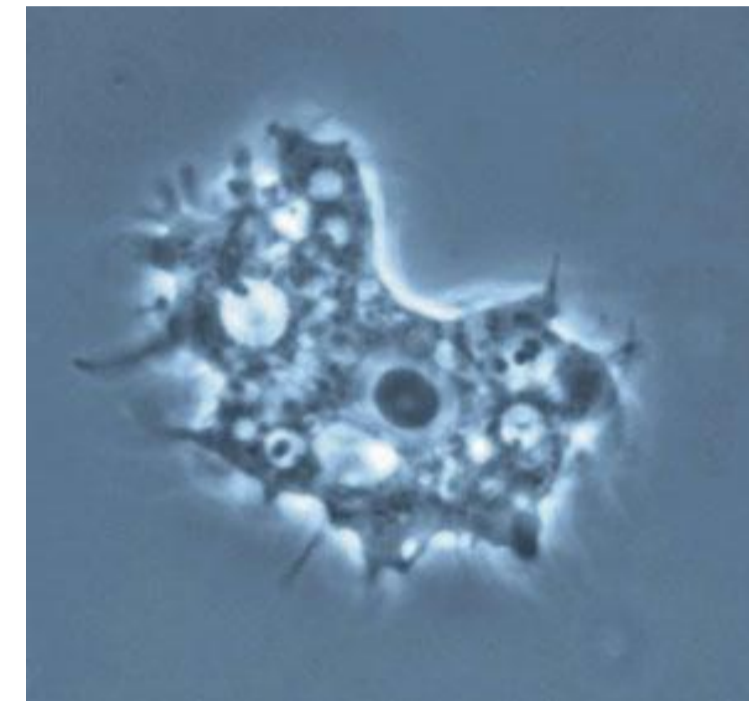


Figura 1: Trofozoíto



Figura 2: Ceratite amebiana (Khan 2006)

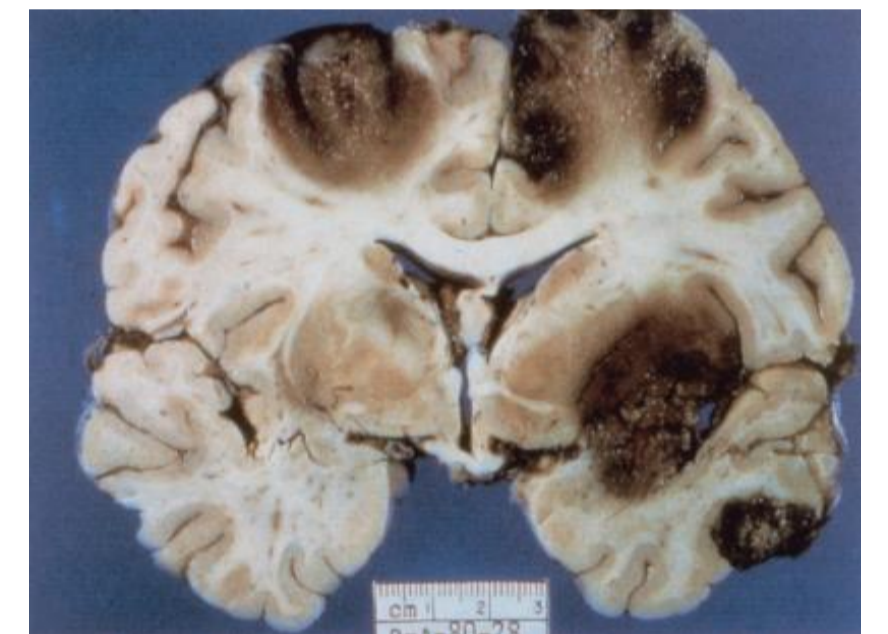


Figura 3: Encefalite (Marciano Cabral & Cabral, 2003) por *Acanthamoeba*.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é testar a citopatogenicidade de quatorze isolados de *Acanthamoeba* obtidos de lesões cutâneas e de mucosa nasal de cães domiciliados em Porto Alegre, utilizando células VERO.

MATERIAIS E MÉTODOS

As células VERO (figura 4), foram cultivadas em meio Eagle's -meio essencial mínimo (E-MEM)- suplementado com 10% de soro fetal bovino e mantidas em uma atmosfera de 5% de CO₂ a 37°C. Os isolados de amebas foram cultivados em meio líquido contendo 0,75% (m/v) proteose peptona, 0,75% (m/v) extrato de levedura e 1,5% (m/v) glicose (PYG) com 40 µL/mL de antibióticos a 30°C.

O efeito citopático foi avaliado através do ensaio de MTT. Em placas de 96 poços (figura 5) foram adicionadas 4,0x10⁴ células VERO por poço e após atingir a confluência celular, os isolados foram colocados na mesma proporção. Após 24h de incubação, a solução MTT (2mg/mL) foi adicionada nos poços e incubada por 4 horas, a seguir a solução foi retirada, foram adicionados 100µL de DMSO e a placa foi homogeneizada. A densidade óptica (OD) foi mensurada em um leitor de ELISA a 550nm, os resultados foram expressos como o percentual da OD das células viáveis em relação à OD do controle não tratado.

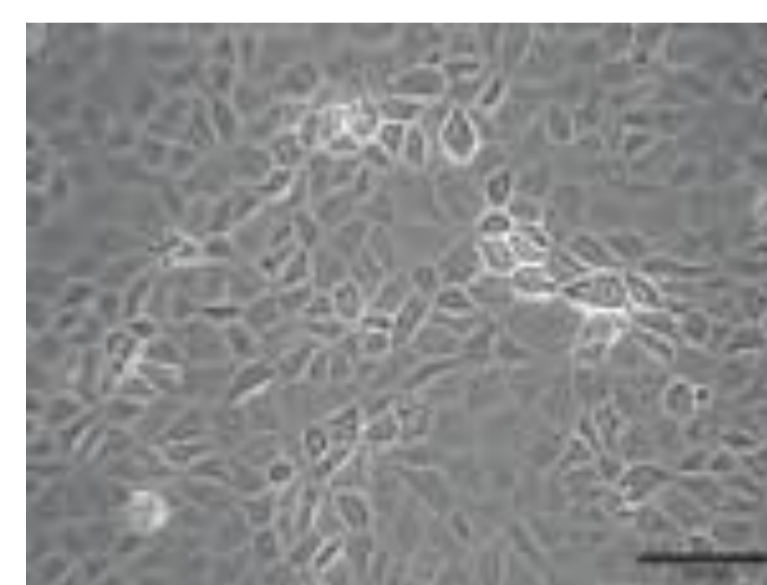


Figura 4: Células VERO

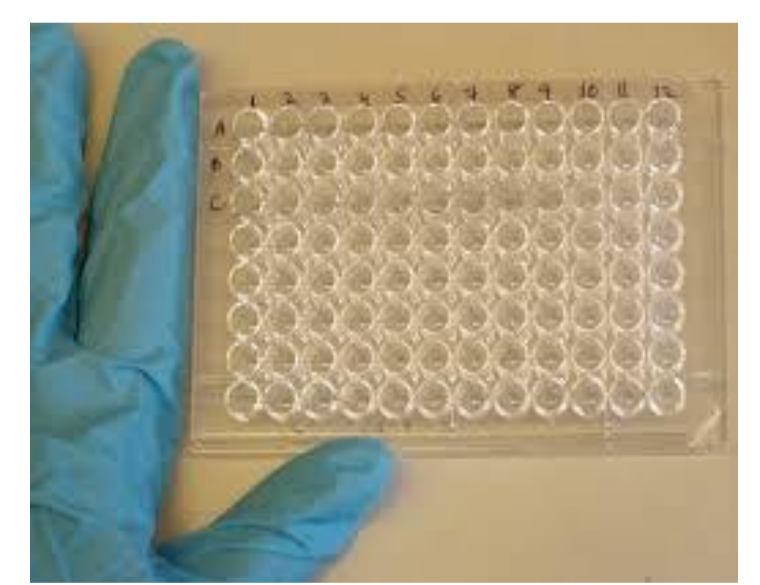


Figura 5: Placa de 96 poços

RESULTADOS

Os resultados parciais mostraram que dos 14 isolados, oito apresentaram efeito citopático, sendo 2 provenientes de lesões cutâneas e 6 de mucosa nasal, o que os caracteriza como potencialmente patogênicos.