

SALÃO DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
**XXIX SIC**  
  
**UFRGS**  
PROPESQ



múltipla   
**UNIVERSIDADE**  
inovadora  inspiradora

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2017
<b>Local</b>	Campus do Vale
<b>Título</b>	Isolamento de Microrganismos Através da Cocultura e Enriquecimento Amebiano
<b>Autor</b>	FRANCISCO KERCHER BERTE
<b>Orientador</b>	MARILISE BRITTES ROTT

Isolamento de Microrganismos Através da Cocultura e Enriquecimento Amebiano  
Francisco Kercher Berte  
Marilise Brittes Rott  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Amebas de vida livre (AVL), são protozoários ubiqüitários na natureza ou em ambientes artificiais como fontes de água, estojos de lente de contato, filtros de ar condicionado, reservatórios de água em torres de resfriamento. Alguns gêneros podem ser anfitriões, adaptando-se na vida livre ou parasitária podendo comportar-se como patógenos ou oportunistas. Além disso, podem servir como reservatório natural para outros microrganismos e para estudos relativos à virulência, patogenicidade e interações microrganismo-hospedeiro. O objetivo do presente trabalho é implementar técnicas de isolamento e identificação de microrganismos ambientais, chamadas cocultura e enriquecimento amebiano, estabelecer comparação entre diferentes gêneros amebianos hospedeiros, além de identificar os organismos isolados. No método de enriquecimento amostras de água (1L) foram coletadas de fontes de origem antropogênica, filtradas em membrana de polícarbonato de poros de 0,22µm. Após, as membranas foram retiradas e colocadas sobre placas de Petri e realizou-se uma lavagem com 2mL de salina de Page e o conteúdo foi transferido para tubos de centrifugação de 15mL (1800 r.p.m. - 10min). 150µL do sedimento foram inoculados em placas de Petri com ágar não nutriente 1,5% recoberto com suspensão de *Escherichia coli* inativada pelo calor, incubadas a 30°C e observadas diariamente sob microscopia de luz com objetiva de 10X para verificar crescimento. Para a identificação de AVL e microrganismos resistentes ao processo de lisossomal amebiano foram realizadas raspagens sobre as placas. As células foram ressuspensas em meio Page, o DNA foi extraído e os gêneros amebianos e bacterianos identificados através de reação de PCR com oligonucleotídeos específicos. Para o protocolo de cocultura amebiana partindo do mesmo processo de filtragem e centrifugação da amostra, 1000µL do sedimento foi inoculado de forma seriada (diluições na ordem de 10X) em microplaca de 24 poços previamente inoculada com 10<sup>5</sup> amebas do gênero *Acanthamoeba*, de origem ATCC, por cerca de 2 horas para sedimentação, contendo ao fundo uma lamínula redonda para posterior coloração. A microplaca foi então centrifugada a 1800 x g por 10 min. Após uma hora de contato as microplacas foram lavadas três vezes e incubadas em estufa a 30°C em atmosfera umidificada. Diariamente as placas eram observadas para determinação de lise e colorações eram feitas para observação de bactérias internalizadas. Os resultados parciais mostraram que pela técnica de cocultivo amebiano foi possível isolar de uma amostra de água, bactérias do gênero *Pseudomonas*.