



ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE AMEBAS DE VIDA LIVRE E SEUS ENDOSSIMBIONTES EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.)

Renata Sanhudo Kepler¹, Marilise Brittes Rott²
1 Faculdade de Biomedicina UNIRITTER
2 Instituto de Ciências Básicas da Saúde UFRGS

Introdução

Alguns estudos tem demonstrado a presença de amebas de vida livre (AVL) em diversos ambientes. As AVL são protozoários que não causam doenças quando consumidos com alimentos, porém, podem atuar como hospedeiras de microrganismos patogênicos. A alface é o vegetal folhoso mais consumido no Brasil e no mundo, e por ser consumido cru, este vegetal não passa por um processamento que elimine todos os microrganismos que possam estar presentes. Pela falta de informações sobre o assunto, o trabalho visa isolar e identificar amebas de vida livre (AVL) e seus endossimbiontes presentes em alface.

Metodologia

Foram obtidos até o presente momento um total de 26 pés de alface. Sendo feitas duas amostragens de 50 ± 10 g das folhas de cada pé de alface, uma para análise sem higienização e a outra higienizada, totalizando 52 amostras. A higienização foi realizada utilizando-se uma solução de cloro na concentração de 200 p.p.m por imersão durante 15 minutos conforme especificado na legislação (RDC 216/2004) e posteriormente as folhas eram lavadas em água corrente e ambas as amostras eram imersas em 500 mL de água destilada por 15 min. Com auxílio de um pincel as amostras sofreram remoção de possíveis estruturas parasitárias. O líquido obtido foi filtrado através de uma membrana de polycarbonato (Millipore, tipo HTTP) com poros de $3\mu\text{m}$. O material foi eluído da membrana com 2mL de solução salina de Page (De Carli, 2007) utilizando um raspador de células, após foi centrifugado a 1800 r.p.m por 10 minutos. O líquido sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspenso em 400 μl de solução salina de Page. Para a realização do isolamento das amebas, foi utilizada uma placa de Petri com ágar não nutriente (ANN) 1,5% previamente recoberto com uma suspensão de *Escherichia coli* inativadas pelo calor. Foram inoculados 100 μl do sedimento no centro da placa que foi incubada a 30°C por até 10 dias. As placas foram examinadas diariamente ao microscópio óptico. Após esta etapa, as amostras positivas para AVL serão submetidas à clonagem celular, e posterior identificação morfológica e molecular das amebas e seus endossimbiontes.

Objetivo

O trabalho tem como objetivo isolar e caracterizar AVL e seus endossimbiontes presentes em alface higienizada e não higienizada de diferentes cultivos.



Figura 1 - Trofozoíto de AVL.
Fonte: ICB/USP

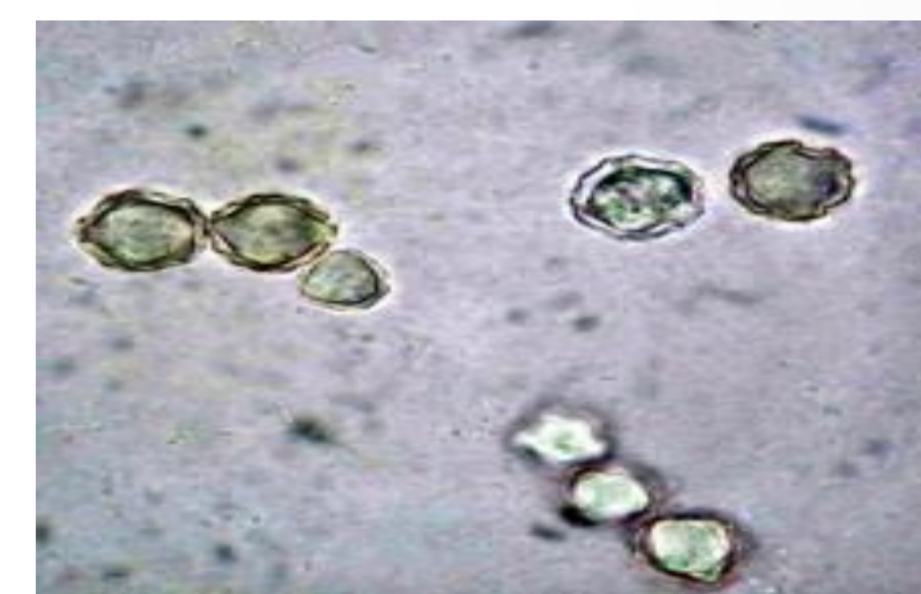


Figura 2 - Cistos de AVL.
Fonte: ICB/USP

Resultados e conclusão

Os resultados preliminares mostraram que das 52 amostras analisadas 05 higienizadas e 23 não higienizadas foram positivas para AVL.

