



A VISCOSIDADE DO MEIO DE CULTIVO E ESTRESSORES CELULARES AFETAM A MOTILIDADE DE *Cryptococcus neoformans*

Marcelo Airton Silva de Oliveira^{1,2} e Lívia Kmetzsch Rosa e Silva²

¹Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS; ²Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Centro de Biotecnologia, UFRGS.

INTRODUÇÃO

Cryptococcus neoformans e *Cryptococcus gattii* são os fungos patogênicos etiológicos da criptococose, uma doença que provoca lesões pulmonares e meningite, ocasionando mais de 180.000 mortes por ano. Não há estudos previamente publicados avaliando a motilidade dessas leveduras. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo explorar a motilidade de *C. neoformans*.

MATERIAIS E MÉTODOS

C. neoformans H99 WT e Δ GRASP foram inoculados na superfície do meio de cultivo YPD com variações nas concentrações de ágar, cloreto de sódio, dodecil sulfato de sódio e peróxido de hidrogênio para compreender a expansão colonial, além da morfologia e do volume celular. Além disso, foram realizadas análises das células por microscopia de luz para identificar alterações morfológicas presentes nessas leveduras sob estresse e correlacionar com o fenótipo móvel de *sliding*. Foi realizada contagem de células presentes nas colônias afim de avaliar se a expansão colonial ocorre devido ao deslocamento celular ou ao aumento do número de células.

RESULTADOS

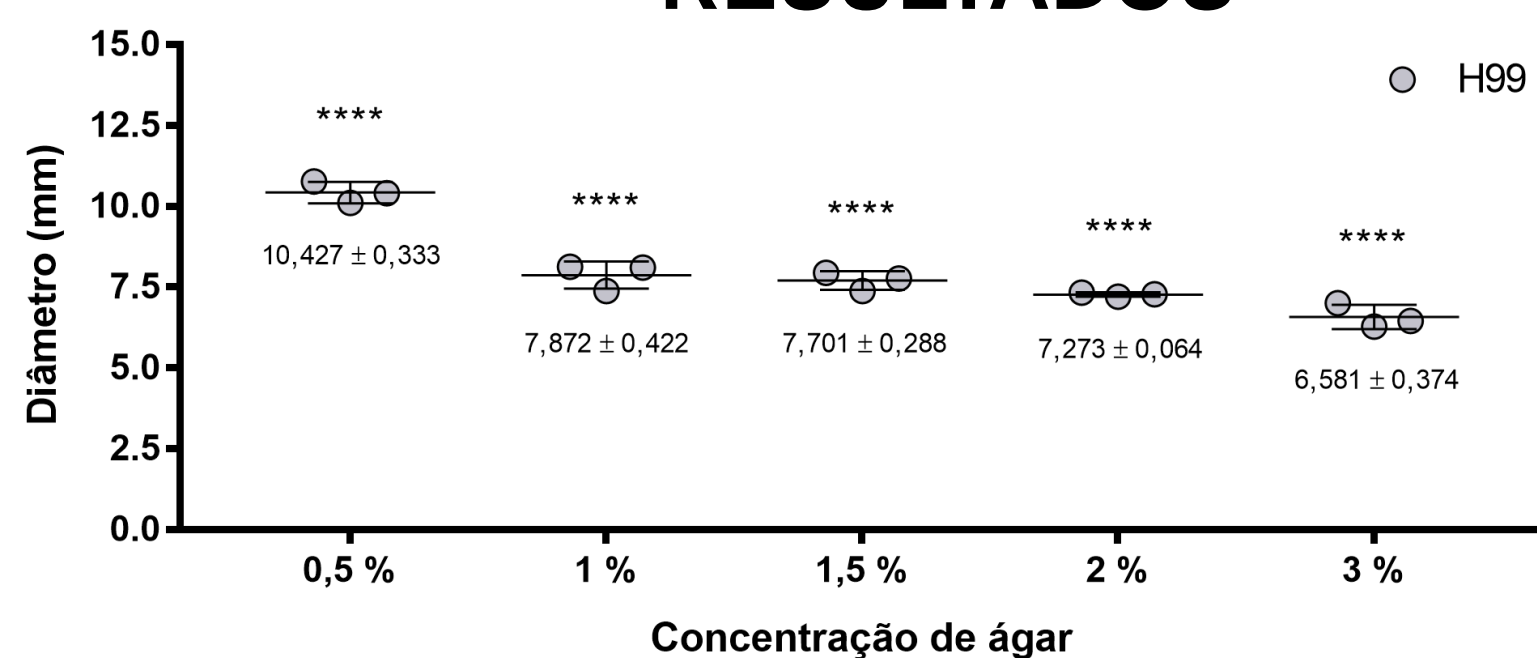


Fig. 1 - Análise da influência da concentração de ágar no diâmetro da colônia. Células de *C. neoformans* H99 foram cultivadas em meio YPD sólido acrescido de diferentes concentrações de ágar, conforme indicado. Estatística realizada com *One-Way ANOVA* e definida a condição 0,5 % como controle. Os asteriscos **** correspondem a $p < 0.0001$.

Fig. 2 - Medição do número de células em uma colônia em meio de cultura ágar YPD após 72 horas de inoculação. *C. neoformans* H99 e Δ GRASP não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0.05$, ns) entre as duas condições de ágar. Estatística feita com *Two-Way ANOVA* com o teste de comparações múltiplas de Sidak em comparação com 0,5 % e 3 % de ágar em cada linhagem.

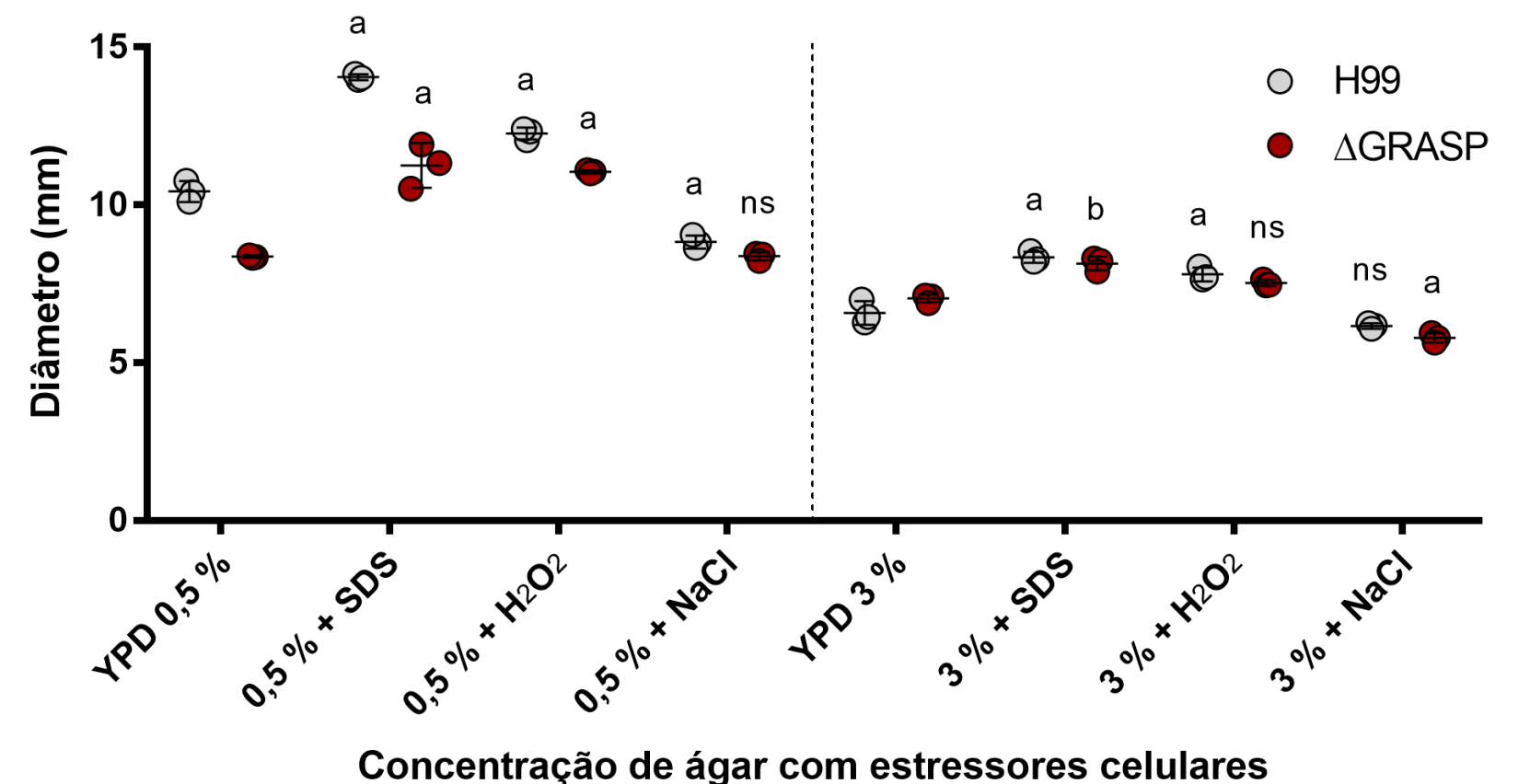
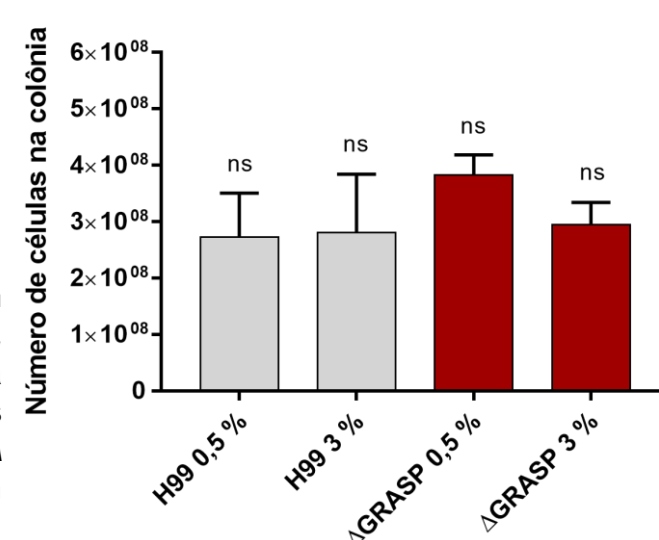


Fig. 3 - Os componentes de SDS e H_2O_2 promovem o aumento da expansão colonial e o NaCl diminui a expansão, em comparação com as condições normais sem esses componentes em ágar YPD 0,5 % e 3 %. Estatística feita por *Two-Way ANOVA* com teste de comparações múltiplas de Sidak em cada linhagem comparada ao ágar de 0,5 % e de 3 % do meio de cultivo. O "a" corresponde a $p < 0.0001$, "b" corresponde a $0.0001 < p < 0.001$ e os valores não significativos (ns) correspondem a $p \geq 0.05$.

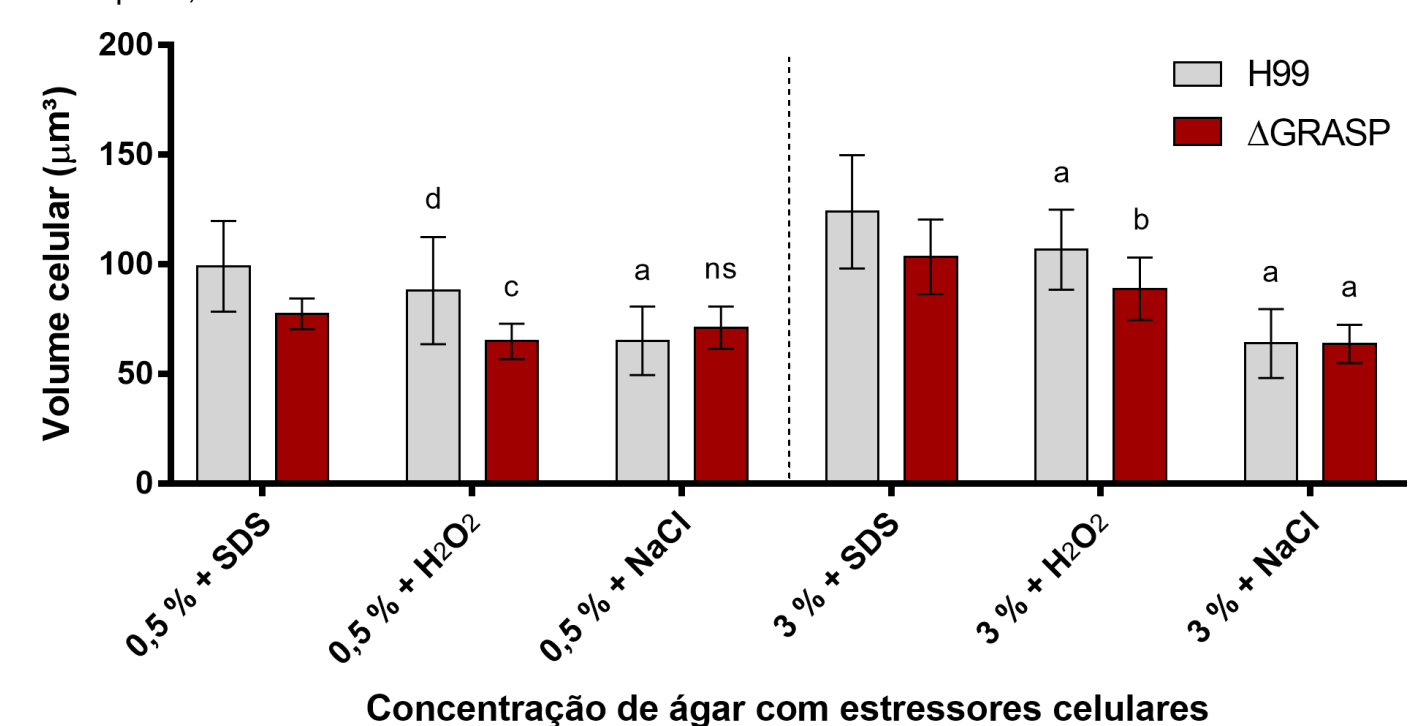


Fig. 4 - Alterações no volume celular em diferentes compostos no meio de cultura. Em média, o meio de cultivo com 3 % de ágar-ágar (*hard agar*) promove um aumento do volume celular. Estatística feita por *Two-Way ANOVA* com o teste de comparação múltipla de Sidak entre 0,5 % e 3 % de cada linhagem. O "a" corresponde a $p < 0.0001$, "b" corresponde a $0.0001 < p < 0.001$, "c" corresponde a $0.001 < p < 0.01$, "d" corresponde a $0.01 < p < 0.05$ e valores não significativos (ns) correspondem a $p \geq 0.05$.

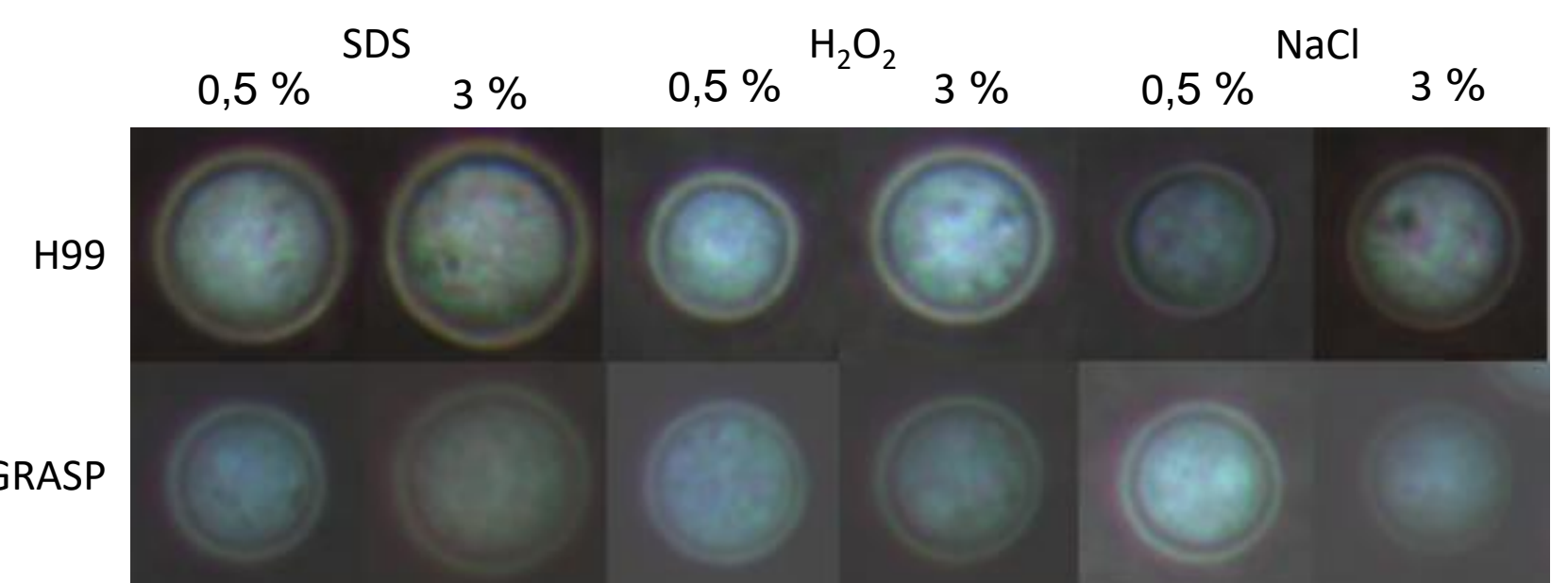


Fig. 5 - Células analisadas por meio de microscopia de luz não apresentaram lise celular ou alteração da morfologia celular pela ação dos compostos estressores.

CONCLUSÕES

A menor viscosidade e a presença de compostos químicos favorecem movimento da levedura *C. neoformans*. No entanto, mais experimentos são necessários para esta hipótese.

A concentração de células presentes nas colônias não difere-se significativamente entre as duas condições de viscosidade.