



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Avaliação da virulência de linhagens fluorescentes de <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Cryptococcus gattii</i>
Autor	BETINA DEBASTIANI BENATO
Orientador	MARILENE HENNING VAINSTEIN

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Avaliação da virulência de linhagens fluorescentes de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*

Autor: Betina Debastiani Benato

Orientador: Profa. Marilene Henning Vainstein

O uso de marcadores fluorescentes para o monitoramento de tratamentos terapêuticos possibilita a visualização de processos infecciosos *in vivo*, além de permitir determinações quantitativas do patógeno. Sendo assim, a construção de linhagens fluorescentes de *Cryptococcus gattii* e *Cryptococcus neoformans* nos permite uma melhor avaliação de potenciais antifúngicos para tratamento da criptococose em modelos murinos *in vivo*. A criptococose é uma doença fúngica invasiva causada pelas espécies patogênicas *C. neoformans* e *C. gattii*. Mundialmente, afeta aproximadamente, um milhão de indivíduos por ano, gerando um alto índice de mortalidade. Entretanto, o tratamento atual com antifúngicos tem demonstrado algumas limitações relativas à toxicidade e resistência, logo, a busca por fármacos mais eficientes se faz necessária. O objetivo desse trabalho é caracterizar os principais fatores de virulência de linhagens fluorescentes de *C. neoformans* e *C. gattii*, possibilitando a utilização dessas linhagens na avaliação antifúngica de um composto identificado pelo nosso grupo, a plumieridina, um iridóide isolado da planta *Allamanda polyantha*. Foram construídas linhagens fluorescentes de *C. neoformans* (H99), e *C. gattii* (R265), expressando constitutivamente o marcador de fluorescência TurboFP635. A verificação dos níveis de emissão de fluorescência das linhagens construídas foi determinada no equipamento IVIS LUMINA. Após confirmada a fluorescência, os principais fatores de virulência (melanização, produção de cápsula polissacarídica e crescimento a 37°C) foram analisados para verificar se esses determinantes de virulência não estavam alterados em comparação com as linhagens selvagens. Para a avaliação da produção de melanina as linhagens fluorescentes e selvagens foram inoculadas em meio mínimo com L-DOPA e incubadas a 30°C por 48 horas. A habilidade de crescimento a 37°C das linhagens foi realizada em meio YPD e incubação por 48 horas. Para a análise da formação de cápsula foi realizado um cultivo em meio YPD por 18 horas e posteriormente 1×10^6 células deste cultivo foram inoculadas em meio RPMI e incubadas por 48 horas a 37°C na presença de 5% de CO₂. Tinta da Índia foi utilizada para preparar as lâminas para visualização das células por microscopia óptica. Os fatores fenotípicos observados nas linhagens fluorescentes foram semelhantes aos observados nas linhagens selvagens. A virulência das linhagens fluorescentes também foi avaliada *in vivo*. Camundongos infectados com a linhagem fluorescente H99 apresentaram a curva de mortalidade semelhante aos animais infectados com a linhagem selvagem H99. Até o presente momento não foi avaliada a virulência da linhagem fluorescente R265 *in vivo*. Dessa forma os ensaios utilizando linhagens fluorescentes para avaliação da terapia antifúngica estão sendo realizados com a linhagem H99 fluorescente.