



# Universidade: presente!

**UFRGS**  
PROPEAQ



## XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2019
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Identificação de Micro-organismos Através da Cocultura e Enriquecimento Amebiano
<b>Autor</b>	FRANCISCO KERCHER BERTE
<b>Orientador</b>	MARILISE BRITTES ROTT

## Identificação de Micro-organismos Através da Cocultura e Enriquecimento Amebiano

Francisco Kercher Berté  
Marilise Brittes Rott  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Amebas de vida livre (AVL) são protozoários ubiqüitários, encontrados em ambientes naturais e antropogênicos, como fontes artificiais, piscinas, torres de resfriamento de ar condicionado e estojos de lentes de contato. Dentre as AVL existentes, os gêneros *Acanthamoeba* e *Naegleria* despertam interesse por serem patogênicos e oportunistas. Além disso, AVL também podem servir como reservatório natural para micro-organismos resistentes à fusão lisossomal das amebas, chamados micro-organismos resistentes a amebas (MRA), protegendo-os e tornando-se um ambiente propício para trocas gênicas. O objetivo do presente trabalho foi isolar e identificar bactérias e AVL através de duas técnicas: a cocultura e o enriquecimento amebianos. O trabalho foi realizado em um hospital público e um hospital privado nas cidades de Porto Alegre e Santa Cruz do Sul/RS, respectivamente. Amostras de 1 L de água foram coletadas de um total de 19 pontos das duas instituições, cada amostra foi filtrada à vácuo com membranas de 0,22µm. Após, a membrana foi raspada utilizando 1ml de PBS 1X (Phosphate Buffer Solution). Para a técnica de cocultura, o material eluído foi submetido à diluição seriada até 10<sup>-4</sup> e 100µL de cada diluição foram inoculados em uma placa de 24 poços contendo 5x10<sup>5</sup> trofozoítos de *Acanthamoeba castellanii* (ATCC 30010) suspensas em 900µL de PBS 1X. Também foram inoculados 100µL do material não diluído e 100µL de PBS 1X para controle negativo, sendo que dois poços (não diluído e 10<sup>-4</sup>) continham lamínulas redondas ao fundo para posterior coloração com Giemsa a fim de observar micro-organismos internalizados por microscopia de luz. As placas foram incubadas em estufa sob temperatura de 30°C. Repiques foram realizados no 7º e no 14º dia a contar da data da inoculação, onde eram inoculados 100 µL da placa antiga em uma nova placa de 24 poços contendo novas células de *A. castellanii*. Para identificação das bactérias internalizadas foi realizada a extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com oligonucleotídeos específicos para *Mycobacterium* e *Pseudomonas* e para o domínio Bacteria. Para a técnica de enriquecimento, 50µL da amostra não diluída foi inoculada em uma placa de Petri com ágar não nutriente 1,5% recoberta com suspensão de *Escherichia coli* inativada. O procedimento foi feito em triplicata. A placa foi incubada em estufa a 30°C e observada por 10 dias por microscopia de luz com aumento de 100X para avaliar a presença de AVL. Após realização de sucessivos repiques para reduzir os contaminantes, as amostras positivas para AVL foram utilizadas para extração de DNA e realização de PCR com oligonucleotídeos específicos para os gêneros amebianos *Acanthamoeba*, *Naegleria* e *Vermamoeba*. Das 19 amostras analisadas até o momento, 7 foram positivas para AVL. Na técnica de cocultura amebiana todas as amostras foram positivas para o domínio Bacteria, 47,36% foram positivas para *Pseudomonas* spp. e 15,78% para *Mycobacterium* spp. Com isso pode-se concluir que os métodos de cocultura e enriquecimento amebiano foram implementados com sucesso proporcionando a identificação de AVL e MRA dos ambientes analisados.