

Sessão 37  
**PARASITOLOGIA**

**333****PADRONIZAÇÃO DE ENSAIO ENZIMÁTICO PARA PROTEASES EXTRACELULARES DE ACANTHAMOEBA SPP.** *Iris de Lacerda Vidaletti, Cristina Fadanelli, Marilise Brittes Rott (orient.) (UFRGS).*

*Acanthamoeba* spp. é um protozoário amplamente distribuído no meio ambiente que não necessita de um hospedeiro para completar seu ciclo de vida. No entanto, é capaz de causar doenças oportunistas ou não, como a Encefalite Granulomatosa, a Ceratite Amebiana e a Amebíase Cutânea. Acredita-se que a capacidade de infecção está relacionada com a produção de proteases por esses microrganismos, que degradam proteínas do hospedeiro. O objetivo desse trabalho é padronizar o ensaio enzimático da atividade proteolítica de isolados ambientais amebianos. Para isso, duas cepas de referência, Neff e T4, foram cultivadas em meio PYG com ou sem manose e na presença ou ausência de antibióticos em tubos falcon com agitação constante de 125 rpm a 35°C por sete dias. Após esse período, os tubos foram centrifugados a 500 rpm por 3 minutos e 100 ml do sobrenadante obtido foi adicionado a 100 ml de tampão Tris-HCl 0,1M e 100 ml do substrato azocaseína 10mg/ml. O ensaio foi testado nos pHs 8 e 9. Os reagentes foram incubados no banho a 37°C por 30 minutos. Após esse período, foi acrescentado 500 µl de ácido tricloroacético 10% nas amostras, sendo estas em seguida homogeneizadas e centrifugadas a 10000 x g por 5 minutos. O sobrenadante foi transferido para tubos contendo 200 µl de NaOH. A seguir, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 420 nm. Como resultados preliminares, tratamentos com ou sem manose não foram diferenciados, porém o isolado T4 apresentou uma maior atividade na ausência de antibióticos. Além disso, foi verificado que a atividade proteolítica apresentou-se, mais elevada em pH 9, sugerindo a presença de proteases alcalinas no meio de cultura. Como perspectivas desse trabalho, serão realizados novos testes caracterizando as proteases de isolados já disponíveis em nosso laboratório por espectrofotometria e zimograma.