



VII SIMPÓSIO DE BIOTECNOLOGIA

INTEGRAÇÃO ENTRE GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO

III MOSTRA ACADÊMICA



AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PADRÕES DE CENTRIFUGAÇÃO APLICADOS A CULTIVOS DE *Leptospira interrogans* SOROVAR COPENHAGENI CEPA FIOCRUZ L1-130

ROSA, ELIAS EDUARDO BARBOSA DA^{1*}; BARBOSA, LIANA NUNES²; FÉLIX, CAROLINA RODRIGUES³; MCBRIDE, ALAN JOHN ALEXANDER⁴

^{1,2,3,4} Laboratório de Pesquisas em Doenças Infecciosas; Biotecnologia – CDTec; UFPel.

^{1*} E-mail do apresentador: eliaseduardobarbosa@gmail.com

Área de submissão: Microbiologia

RESUMO

A leptospirose é uma relevante zoonose causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*. Dos mecanismos de patogenicidade, a membrana externa é a principal estrutura de interação com o hospedeiro. Um problema da manipulação *in vitro* de leptospiros está relacionada à fragilidade das membranas externas que podem se romper durante os protocolos laboratoriais rotineiros. Além disso, não há descrito na literatura protocolos básicos de manipulação do microrganismo, como o de centrifugação destas bactérias de forma segura, garantindo sua integridade visto que o processo de centrifugação está presente na fase inicial de diversos protocolos. O objetivo deste trabalho foi determinar um protocolo de centrifugação de leptospiros ideal para que se obtenham *pellets* destas bactérias com máxima qualidade e taxa de sobrevivência, sem que as mesmas apresentem danos visíveis ao microscópio e que impeçam a multiplicação *in vitro* do microrganismo. Bactérias patogênicas da espécie *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni cepa Fiocruz L1-130 foram descongeladas em meio de cultura EMJH (Ellinghausen McCullough Johnson Harris) e mantidas a 28 °C em cultivo. Os cultivos bacterianos atingiram as concentrações de 10⁸ leptospiros/ml, e então foram submetidos a diferentes padrões de centrifugação. Nove padrões de centrifugação foram testados, sendo divididos em: i) três forças diferentes (3000 g, 8000 g e 16100 g) e, para cada uma destas forças, ii) três tempos (5, 10 e 15 minutos). Como controle positivo, utilizou-se uma cultura de leptospiros com ausência de centrifugação. As bactérias foram avaliadas sob microscopia de campo escuro, quanto a motilidade e qualidade das culturas, e contadas com auxílio de câmara de Petroff-Hausser. Foram feitos inóculos de 10⁵ leptospiros/ml para iniciar curvas bacterianas de crescimento, e as culturas foram mantidas a 28 °C em estufa incubadora. As análises foram realizadas em triplicatas e as culturas bacterianas foram contadas diariamente até atingir a fase estacionária de crescimento. Deste trabalho, concluiu-se que os padrões de centrifugações testados não foram capazes de prejudicar o crescimento *in vitro* das bactérias. Todas as culturas apresentaram uma concentração de 10⁸ leptospiros/ml em fase exponencial e a análise em microscopia pós-centrifugação evidenciou boa motilidade das bactérias. Não houve diferenças estatísticas significativas entre os valores obtidos com os padrões estabelecidos de centrifugações e o crescimento bacteriano.

PALAVRAS-CHAVE: força centrífuga; rompimento celular; leptospirose.