



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Análise da interação entre as cepas APEC MT78 e DM34 com macrófagos murinos J774.
Autor	BRUNA KULMANN LEAL
Orientador	FABIANA HORN

Análise da interação entre as cepas APEC MT78 e DM34 com macrófagos murinos J774. BRUNA KULMANN LEAL, Fabiana Horn (orient.), UFRGS.

Escherichia coli patogênicas aviárias (APEC) causam infecções extra-intestinais em aves e são responsáveis por grandes perdas econômicas na avicultura brasileira. Dentre os fatores de virulência já descritos para APEC está a expressão da fímbria F1, estrutura filamentosa que promove a interação bacteriana com a matriz extracelular, com outras bactérias e com a célula hospedeira. Estudos anteriores mostraram que a fímbria F1 da cepa APEC MT78 (O2:H5:K1) é importante na interação da bactéria com macrófagos e heterófilos de galinha, visto que mutantes nulos para fímbria apresentaram sobrevivência intracelular diminuída em comparação à cepa selvagem. O foco deste estudo é elucidar o destino intra-macróforo da MT78 e elucidar qual a função da fímbria nesta interação. Para isso, realizamos ensaios de adesão e internalização da MT78 e mutante nulo para fímbria F1 (DM34) em macrófagos de mamíferos. Macrófagos murinos da linhagem J774 A.1 foram plaqueados em placas de 96 poços (4×10^4 células por poço) e infectados com uma multiplicidade de infecção de 10 bactérias por célula. Após 1 hora de infecção, as células foram lavadas para remoção das bactérias não aderidas/internalizadas. Para o ensaio de adesão, as células foram lisadas e o extrato celular plaqueado para contabilização das bactérias aderidas/internalizadas. Para o ensaio de invasão, as células foram re-incubadas em meio contendo gentamicina (50 μ g/ml) por mais 3 horas, quando então as células foram lisadas e o extrato celular plaqueado para contabilização das bactérias internalizadas. A MT78 apresentou uma adesão média de $1,733 \pm 0,416$ UFC/célula, enquanto a DM34 apresentou uma adesão média de $0,433 \pm 0,23$ UFC/célula. A MT78 apresentou uma internalização média de $0,720 \pm 0,312$ UFC/célula, enquanto a DM34 apresentou uma internalização média de $0,17 \pm 0,165$ UFC/célula. De acordo com a literatura, a redução observada pode ser atribuída a ambos: a diminuição da capacidade aderente e perturbação na capacidade de sobrevivência da bactéria. Também analisamos se a MT78 seria capaz de escapar do interior do macróforo. Para análise da fuga celular, os macrófagos foram infectados por 1 h, lavados e incubados com gentamicina, quando o meio das células foi substituído por meio fresco sem antibiótico e o sobrenadante plaqueado após diferentes tempos de incubação. Para os tempos analisados, não detectamos evasão bacteriana do macróforo. De acordo com nossos resultados, as cepas APEC estudadas (MT78 e DM34) foram capazes de interagir com macrófagos de mamíferos. A diminuição nas taxas de adesão e internalização no mutante DM34 reforça a importância da expressão da fímbria para a interação da cepa MT78 com fagócitos. Por fim, a cepa MT78 não foi capaz de escapar do interior do macróforo.