

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE *ACANTHAMOEBA* DE EQUIPAMENTOS LAVA-OLHOS

Lua Panatieri¹; [Ana Maris Carlesso](mailto:anacarlesso@yahoo.com.br)²; Marilise Brittes Rott³

¹Graduanda do Curso de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, E-mail: lua.ferpan@gmail.com; ²Doutoranda do Programa de Pós-Graduação de Microbiologia Agrícola e do Ambiente - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, E-mail: anacarlesso@yahoo.com.br; ³Professora orientadora – Departamento de Microbiologia, Parasitologia e Imunologia – Instituto de Ciências Básicas da Saúde - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, E-mail: marilise.rott@ufrgs.br

Resumo – Dentre as amebas de vida livre (AVL), a *Acanthamoeba* é o gênero mais amplamente distribuído na natureza. Este protozoário é importante devido ao seu caráter anfitriônico. Lava-olhos são equipamentos de proteção coletiva, presentes em locais onde há riscos de acidentes com produtos químicos, de modo que a NR-32 estabelece a necessidade de processos de higienização e desinfecção semanal destes equipamentos. A ineficiência deste procedimento possibilita a formação de biofilmes e favorece o desenvolvimento de diversos microorganismos, inclusive de *Acanthamoeba*, que pode ser agente da ceratite amebiana, doença progressiva e dolorosa que ameaça a visão. Este trabalho teve como objetivo isolar amebas de vida livre do gênero *Acanthamoeba* em amostras de biofilme e água de equipamentos lava-olhos, e caracterizá-las morfológicamente seguindo critérios propostos por Page (1988). Amostras de água e biofilme foram coletadas de equipamentos lava-olhos de laboratórios de uma universidade. Após processadas, as amostras foram avaliadas quanto aos critérios morfológicos, através da observação em microscópio óptico. Das 74 amostras coletadas, 37 foram de biofilme e 37 de água. Destas, 28 de biofilme e 27 de água foram positivas para AVL possivelmente pertencentes ao gênero *Acanthamoeba*, segundo os critérios de Page para morfologia dos cistos e trofozoítos. Os resultados obtidos demonstram que as condições sanitárias dos lava-olhos avaliados são precárias e podem oferecer aos usuários risco de contaminação com AVL do gênero *Acanthamoeba*.

Palavras-chave: *Acanthamoeba*; Lava-olhos; Biofilme

Introdução

Dentre as Amebas de Vida Livre (AVL) existentes, a *Acanthamoeba* é o gênero mais amplamente distribuído na natureza, sendo encontrada em água doce e salgada, piscinas, estojos de lente de contato, água potável, poeira, ar condicionado e em biofilmes, inclusive de bebedouros coletivos (Carlesso *et al.*, 2010; Caumo *et al.*, 2009; Pens *et al.* 2008; Khan, 2006; Marciano-Cabral & Cabral, 2003.). Este protozoário possui um caráter anfitriônico, uma vez que se adapta tanto à vida livre quanto parasitária. Lava-olhos são equipamentos de proteção coletiva, presentes em locais onde há riscos de acidentes com produtos químicos, como laboratórios acadêmicos e de pesquisa, indústrias e almoxarifados de reagentes. A Norma Regulamentadora 32 (NR-32), do Ministério do Trabalho e Emprego, referente à segurança e saúde no trabalho em serviços de saúde, estabelece que estes equipamentos devem estar em locais de fácil acesso e passar por processos adequados de higienização e desinfecção semanal, garantindo desta forma a salubridade do equipamento no momento do uso. Neste sentido, quando a manutenção correta dos lava-olhos não ocorre, possibilita-se a formação de biofilmes, que favorecem o desenvolvimento de diversos microorganismos,

inclusive de *Acanthamoeba*. Ceratite amebiana é uma doença progressiva e dolorosa que ameaça a visão. Conforme já bem descrito na literatura, a ceratite pode ser causada por várias espécies do gênero *Acanthamoeba*, entre elas *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. hatchetti*, *A. culbertsoni*, *A. rhyodes*, *A. griffini*, *A. quina* e *A. lugdunensis* (Marciano-Cabral & Cabral, 2003). Os critérios de Page estabelecem características morfológicas para identificação das AVL em relação ao gênero. Para identificação do gênero *Acanthamoeba*, em relação aos cistos, são considerados: tamanho, além da presença e formato da dupla parede celular. Quanto aos trofozoítos são considerados a presença de nucléolo evidente, vacúolos digestórios e contráteis bem como a presença de acantopódios (Figura 1). Este trabalho teve como objetivo isolar amebas de vida livre (AVL) do gênero *Acanthamoeba* em amostras de biofilme e água de equipamentos lava-olhos, e caracterizá-las morfológicamente seguindo critérios propostos por Page (1988).

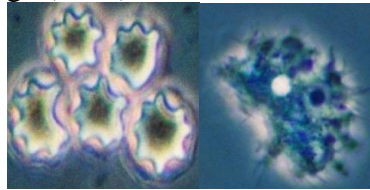


Figura 1 – Cistos e trofozoítos morfológicamente característicos, segundo os critérios de Page (1988). Imagens: Caumo, K.S. Laboratório de parasitologia UFRGS.

Materiais e Métodos

Amostras de água e biofilme foram coletadas de equipamentos lava-olhos de laboratórios de uma universidade. As amostras de biofilme foram coletadas das saídas de água com suabes estéreis e armazenados em tubos estéreis até o momento do processamento da amostra. Posteriormente, foram coletados 50 mL de água em tubos estéreis por acionamento do equipamento. Pressupondo-se que os equipamentos ao serem utilizados serão acionados imediatamente, ao coletar as amostras não houve prévio escoamento da água.

Os suabes utilizados na coleta dos biofilmes foram transferidos para tubos estéreis, contendo 50 mL de água destilada estéril e submetidos à sedimentação espontânea por 2 horas. Após, os suabes foram espremidos e os tubos centrifugados a 2500 rpm /10 minutos. Os sobrenadantes foram descartados e o sedimento ressuspenso em 500 µL de solução salina de Page (De Carli, 2001). 100 µL dessa suspensão foram inoculados em placa contendo ágar não nutriente 1,5% recoberto com suspensão de *E. coli*. Os tubos contendo a água coletada foram centrifugados a 2500 rpm/10 minutos e processados conforme já descrito.

Após inoculação, as placas foram incubadas a 30°C e observadas diariamente, por até dez dias, ao microscópio óptico em aumento de 100X. Os critérios de Page foram avaliados por observação em microscópio, após obtenção dos isolados monoxênicos em placas.

Resultados e Discussão

Das 74 amostras coletadas, 37 foram de biofilme e 37 de água. Destas, 28 de biofilme e 27 de água foram positivas para AVL possivelmente pertencentes ao gênero

Acanthamoeba (Figura 2), segundo os critérios de Page para morfologia dos cistos e trofozoítos.

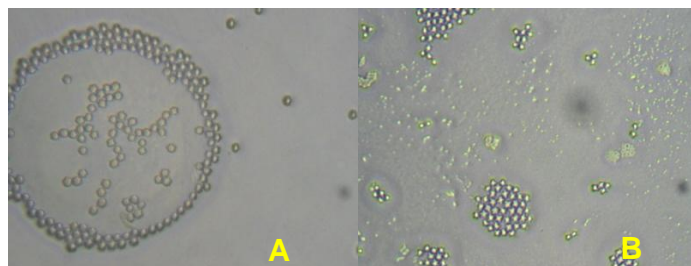


Figura 2 – em A cistos característicos do gênero *Acanthamoeba*, de uma das amostra de biofilme. Em B cistos e trofozoítos característicos do gênero *Acanthamoeba* isolados de ima amostra de água (aumento 100x).

Apesar de haver poucos trabalhos relacionando *Acanthamoeba* a lava-olhos, Tyndall *et al* (1987) coletaram 130 amostras de 11 equipamentos lava-olhos de uma cidade dos EUA, obtendo 59 isolados de AVL. Ainda neste estudo, os autores testaram o potencial patogênico de seus isolados, tendo observado que três das amostras possuíam amebas patogênicas, pois foram capazes de infectar camundongos.

É importante destacar que um indivíduo que procura auxílio do equipamento lava-olhos sofreu alguma lesão nos olhos, que pode servir de porta de entrada para microrganismos, dentre eles a *Acanthamoeba*. Diversas espécies deste organismo possuem capacidade de invadir e colonizar a epitélio ocular, causando ceratite amebiana, sendo esta uma doença de progressão grave podendo levar a perda completa da visão e enucleação (Khan, 2006). De acordo com nosso estudo, as condições sanitárias dos lava-olhos avaliados mostram o desenvolvimento de *Acanthamoeba* em decorrência da instalação de biofilme, representando risco àqueles que utilizam esses equipamentos.

Conclusão

Os resultados demonstram que as condições sanitárias dos lava-olhos avaliados são precárias, e podem oferecer risco de contaminação com AVL do gênero *Acanthamoeba* aos usuários.

Apoio

PROPESQ- UFRGS, PIBIC- CNPq e CAPES.

Referências

- CABRAL, F.M & CABRAL, G. *Acanthamoeba* spp. as Agents of Disease in Humans. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol 16 (2) 273-307, 2003.
- CARLESSO, A.M., CAUMO, K., ARTUSO, G.L., ROTT, M.B., Potentially pathogenic *Acanthamoeba*. Isolated from a Hospital in Brazil. *Rev.Current*. 2010
- CAUMO, K.S; FRASSON, A.P; PENS, C.J; PANATIERI, L.F; FRAZZON, A.P.G; ROTT, M.B. Potentially pathogenic *Acanthamoeba* in swimming pools: a survey in the southern Brazilian city of Porto Alegre. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. Vol 103 (6) 477-485, 2009
- DE CARLI: Diagnóstico Laboratorial das Parasitoses Humanas. Métodos e Técnicas. 2001
- KHAN, N.A. *Acanthamoeba* : biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiology*. Vol 30 564-595, 2006
- PAGE, FC. A New key to freshwater and soil Gymnamoebae. Freshwater Biological Association, Ambleside, Cumbria, UK, 1988.
- PENS, C.J; COSTA, M; FADANELLI, C; CAUMO, K.S; ROTT, M.B. *Acanthamoeba* spp. and bacterial contamination in contact lens storage cases and the relationship to user profiles. *Parasitology Research*. Vol 103, 1241-1245, 2008.

TYNDALL, R.L; LYLE, M.M; IRONSIDE, K.S. The presence of free-living Amoeba in Portable and Stationary Eye wash Station. American Industrial Hygienic Association Journal. Vol 48 (11) 933-934, 1987.

NBR-12 – Ministério do Trabalho e Emprego, disponível em:
http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp