RESUMO - PROTOZOOLOGIA E PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR VETORES

USO DE LINHAGEM DE CÉLULAS EMBRIONÁRIAS DE CARRAPATOS NEOTROPICAIS (RBME-6) COMO SUBSTRATO PARA MANUTENÇÃO DE BARTONELLA SPP.

Natália Rodrigues Paschoal (natalia.paschoal@unesp.br)

Ana Carolina Castro Santiago (ana_carolinacsantiago@hotmail.com)

Rosangela Zacarias Machado (rz.machado@unesp.br)

Prof. Dra. Darci De Moraes Barros-Battesti (darci.moraes@unesp.br)

Marcos Rogério André (mr.andre@unesp.br)

O uso de linhagens celulares de carrapatos como sistemas vetoriais in vitro é fundamental para o estudo de patógenos, permitindo investigar as relações vetor-hospedeiro de forma controlada. Apesar do avanço no cultivo de agentes como Ehrlichia e Anaplasma, estudos sobre a manutenção de isolados brasileiros de Bartonella spp. em células de carrapatos neotropicais são escassos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade das linhagens RBME-6 (Rhipicephalus microplus) para a infecção e estudo da cinética de infecção por Bartonella henselae isolada de amostra de sangue de Felis catus. Células da linhagem RBME-6 (3,55x106 cél/mL) contendo meio L15-B Leibovitz

(Vitrocell Embriolife, SP, Brasil), suplementado com caldo de triptose fosfato (BD DIFCO, MD, USA), Lipoproteina (Gibco, ThermoFisher, MA, USA), Vitaminas (Vitrocell Embriolife, SP, Brasil) e L- Glutamina (Vitrocell Embriolife, SP, Brasil)] foi acrescido de 5% de soro fetal bovino enriquecido com ferro (Fisher Scientific, ThermoFisher, MA, USA), foram infectadas com B. henselae (9x108 UFC/mL), estabelecendo uma multiplicidade de infecção (MOI) de 253,52. Coletas foram realizadas entre os dias 3 e 8 pós-infecção para extração de RNA de células aderidas (G1) e em suspensão (G5), além do acompanhamento de um grupo controle não-infectado (G2). A análise da cinética de crescimento de B. henselae por RT-qPCR baseado no gene nuoG de Bartonella spp. revelou que a carga bacteriana no G5 permaneceu significativamente superior à do G1 (Wilcoxon, $p < 0,001$), atingindo magnitude seis vezes maior ao final do período. No G1, observou-se um pico de infecção no dia 7 (105 cópias/mL). Estatisticamente, não houve variação significativa na contagem celular de células embrionárias de carrapatos ao longo dos dias entre o grupo infectado (G1) e o controle (G2), assim como entre G1 e G5 ($p > 0,05$), indicando que a infecção não comprometeu a viabilidade ou o crescimento celular nas condições avaliadas. Esses resultados demonstram que a linhagem RBME-6 suporta a infecção por B. henselae sem apresentar efeitos citopáticos imediatos, podendo evidenciar uma possível preferência do patógeno pelo ambiente extracelular. Alternativamente, o curto período de observação pode não ter possibilitado que a infecção ocorresse de forma adequada no tapete celular. Este estudo fornece dados iniciais sobre a dinâmica de um isolado nacional de B. henselae em células embrionárias de carrapatos neotropicais. Futuros estudos serão realizados com um tempo de infecção maior (30 dias) e com outra linhagem de células embrionárias do carrapato neotropical Amblyomma sculptum (ASE-14).

Palavras-chave: bartonella henselae; linhagem celular de carrapato; cultura celular; replicação bacteriana.