

RESUMO - PROTOZOOLOGIA E PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR
VETORES

**CULTIVO CELULAR E TRIAGEM MOLECULAR DE BACTÉRIAS DA ORDEM
RICKETTSIALES A PARTIR DE CTENOCEPHALIDES FELIS FELIS EM
CÉLULAS VERO**

Victor Figueiroa Andrade (victorfigueiroa2021@ufrj.br)

Jônathan David Ribas Chagas (jonathanchagas@ufrj.br)

Isadora Dos Santos Dias (isadorasdias100@gmail.com)

Ana Clara Rodrigues Felix Da Silva (anaclararf2001@gmail.com)

Ester Oliozi Marré (esterom17@outlook.com)

Matheus Dias Cordeiro (mathcordeiro@hotmail.com)

Thais Ribeiro Correia Azevedo (thaisrca@gmail.com)

Claudia Bezerra Da Silva (claudia_ufrj@yahoo.com.br)

Bruna De Azevedo Baêta (babaeta@ufrj.br)

Culturas in vitro permitem estudar interações vetor-patógeno, além de viabilizarem métodos diagnósticos e a obtenção de antígenos, reduzindo também a necessidade do uso de animais experimentais. Bactérias da ordem

Rickettsiales compreendem microrganismos intracelulares obrigatórios de relevância para a saúde animal e humana, transmitidos principalmente por artrópodes hematófagos, como carrapatos e pulgas. Entre esses ectoparasitos, *Ctenocephalides felis felis* destaca-se pela ampla distribuição geográfica e pela capacidade de parasitar animais domésticos e silvestres. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo realizar o isolamento de bactérias da ordem Rickettsiales a partir de pulgas *C. felis felis* utilizando células Vero. Para isso, foram preparados 10 pools contendo cinco exemplares adultos de pulgas, submetidos previamente à desinfecção superficial com álcool 70%, hipoclorito de sódio a 1% e clorexidina a 0,2%. Após lavagem em água ultrapura autoclavada, os espécimes foram macerados e o material obtido inoculado em monocamadas de células Vero mantidas em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino. As culturas foram incubadas a 30°C e monitoradas diariamente por microscopia invertida, sendo realizadas trocas de meio semanalmente. Esfregaços obtidos por citocentrifugação foram fixados em metanol e corados com Giemsa para avaliação microscópica. O DNA foi extraído do sobrenadante das culturas utilizando o kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega®), conforme as recomendações do fabricante. Considerando a suspeita de infecção por agentes da ordem Rickettsiales, realizou-se triagem molecular para membros da família Anaplasmataceae utilizando primers direcionados ao gene 16S rRNA (345 pb), além de PCR para o gênero *Rickettsia* baseada na amplificação de fragmento do gene *gltA* (401 pb). As amostras positivas foram posteriormente submetidas a nova PCR para amplificação de um fragmento maior do gene *gltA* (834 pb), visando posterior sequenciamento molecular. Dos 10 frascos inoculados, oito apresentaram contaminação bacteriana ou fúngica durante o cultivo. Nos dois frascos restantes foram observadas estruturas bacterianas compatíveis com microrganismos intracelulares em esfregaços corados. Ambas as amostras apresentaram amplificação molecular compatível com *Rickettsia* spp., enquanto uma delas também foi positiva para membros da família Anaplasmataceae. Atualmente, os isolados encontram-se na terceira passagem e aguardam os resultados de sequenciamento. Os achados indicam a presença de DNA de bactérias da ordem Rickettsiales em culturas derivadas de *C. felis felis*, contribuindo para o entendimento da associação entre pulgas e bactérias

intracelulares e fornecendo evidências preliminares para futuras investigações moleculares e epidemiológicas.

Palavras-chave: isolamento in vitro; rickettsiaceae; anaplasmataceae; biologia molecular.