

O PROCESSO DE PROPAGAÇÃO DE *Ehrlichia canis* EM MACRÓFAGOS É DEPENDENTE DO CITOESQUELETO DE ACTINA E DO INFLUXO DE CÁLCIO E FERRO

(THE SPREAD PROCESS OF *Ehrlichia canis* IN MACROPHAGES IS DEPENDENT ON ACTIN CYTOSKELETON AND IRON AND CALCIUM INFLUX)

M. A. LEVENHAGEN^{1*}, R. N. ALVES¹, M. M. M. D. LEVENHAGEN¹, S. E. RIECK², M. B. LABRUNA³, M. E. BELETTI¹

Erliquioses são enfermidades de importância médica e veterinária, causadas por α -proteobactéria Gram-negativa pertencente à ordem *Rickettsiales*. No Brasil, o principal agente etiológico da Erliquiose Monocítica Canina (EMC) é a *Ehrlichia canis*, patógeno intracelular obrigatório com tropismo para monócitos e macrófagos. Este microrganismo tem ampla distribuição mundial, mais comumente encontrada em regiões tropicais e subtropicais devido à distribuição geográfica de sua principal vetor, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. O processo de invasão já descrito para algumas bactérias deste gênero, tais como *E. muris* e *E. chaffeensis*, compreende quatro fases: adesão, internalização, proliferação intracelular e propagação intercelular. Entretanto, pouco se sabe sobre os mecanismos celulares envolvidos no processo de invasão nas células-alvo por parte da *Ehrlichia canis*. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar o papel do citoesqueleto de actina, do cálcio e do ferro durante o processo de propagação de *E. canis*, cepa São Paulo, em macrófagos caninos (DH82), *in vitro*. Para cada um desses componentes celulares foram utilizadas diferentes drogas inibitórias: citocalasina D (inibe a polimerização dos filamentos de actina); verapamil (bloqueador de canais de cálcio), ambas incubadas por 3h; e deferoxamina (quelante de ferro), incubadas por 24h. Após o tempo de incubação de cada droga, as células infectadas foram lavadas e mantidas em cultura por quatro dias, em estufa de CO₂ a 5% e 37°C. Após esse tempo, análises semi-quantitativas já descritas, baseadas no tamanho das mórulas, foram realizadas a fim de determinar a taxa de infectividade das células infectadas tratadas em relação às células infectadas e não tratadas. Considerou-se significante valores de $p < 0.05$ (*unpaired 2-tailed Student's t-test*). Os resultados demonstraram uma diminuição significativa no número total de bactérias nas células infectadas tratadas com todas as drogas em relação ao controle, sugerindo que estes componentes celulares analisados são essenciais à propagação de *Ehrlichia canis* em macrófagos *in vitro*. A elucidação da importância desses mecanismos celulares na propagação da bactéria sob estudo serve de base para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia;

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro;

³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo. *mal@icbim.ufu.br