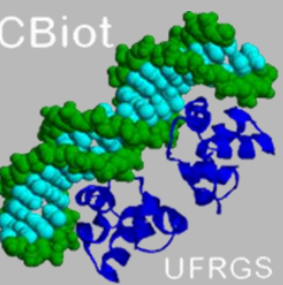




LabFIMB

COMPETIÇÃO INTERESPECÍFICA: A BACTÉRIA *Serratia marcescens* INIBE FATORES DE VIRULÊNCIA DO PATÓGENO HUMANO *Cryptococcus neoformans*



Laura Haleva^{1,2}, Marilene Henning Vainstein².

¹ Aluna de graduação em Ciências Biológicas - UFRGS; ² Centro de Biotecnologia, UFRGS.

INTRODUÇÃO

Historicamente, a microbiologia focou no estudo de espécies isoladas, entretanto, explorar monoculturas não permite um entendimento completo quanto à composição da comunidade e o efeito de suas interações. Por consequência, surge uma nova abordagem de pesquisa que visa a descoberta dos mecanismos de interação entre microrganismos de espécies distintas. A levedura *Cryptococcus neoformans* (*Cn*) é a principal causadora da meningite criptocócica, uma infecção que acomete o sistema nervoso central, atingindo aproximadamente 220.000 pessoas anualmente. Esse patógeno pode ser identificado no trato gastrointestinal de pombos em ambientes urbanos e utiliza vários fatores de virulência durante a infecção, tais como a formação de biofilme. Biofilmes são estruturas complexas revestidas por uma matriz extracelular, o que garante vários benefícios para a sua sobrevivência. Neste contexto, essa pesquisa tem como principal objetivo avaliar a interação de *C. neoformans* com a bactéria *Serratia marcescens* (*Sm*) isolada de excretas de pombo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Linhagens: *C. neoformans* var. *neoformans* linhagem B3501 (serotipo D) e *C. neoformans* var. *grubii* linhagem H99 (sorotipo A) foram usadas neste estudo como controles de tipo selvagem. Duas linhagens mutantes *H99F* e *B3501F* contendo a proteína fluorescente vermelha TurboFP635 (Katushka) geradas em nosso laboratório foram usadas para visualizar *C. neoformans*.

Identificação de bactérias isoladas: A identificação foi realizada por sequenciamento da região 16S rDNA e confirmação por MALDI-TOF MS.

Bactéria reduz formação de cápsula, urease e melanização de *Cn*

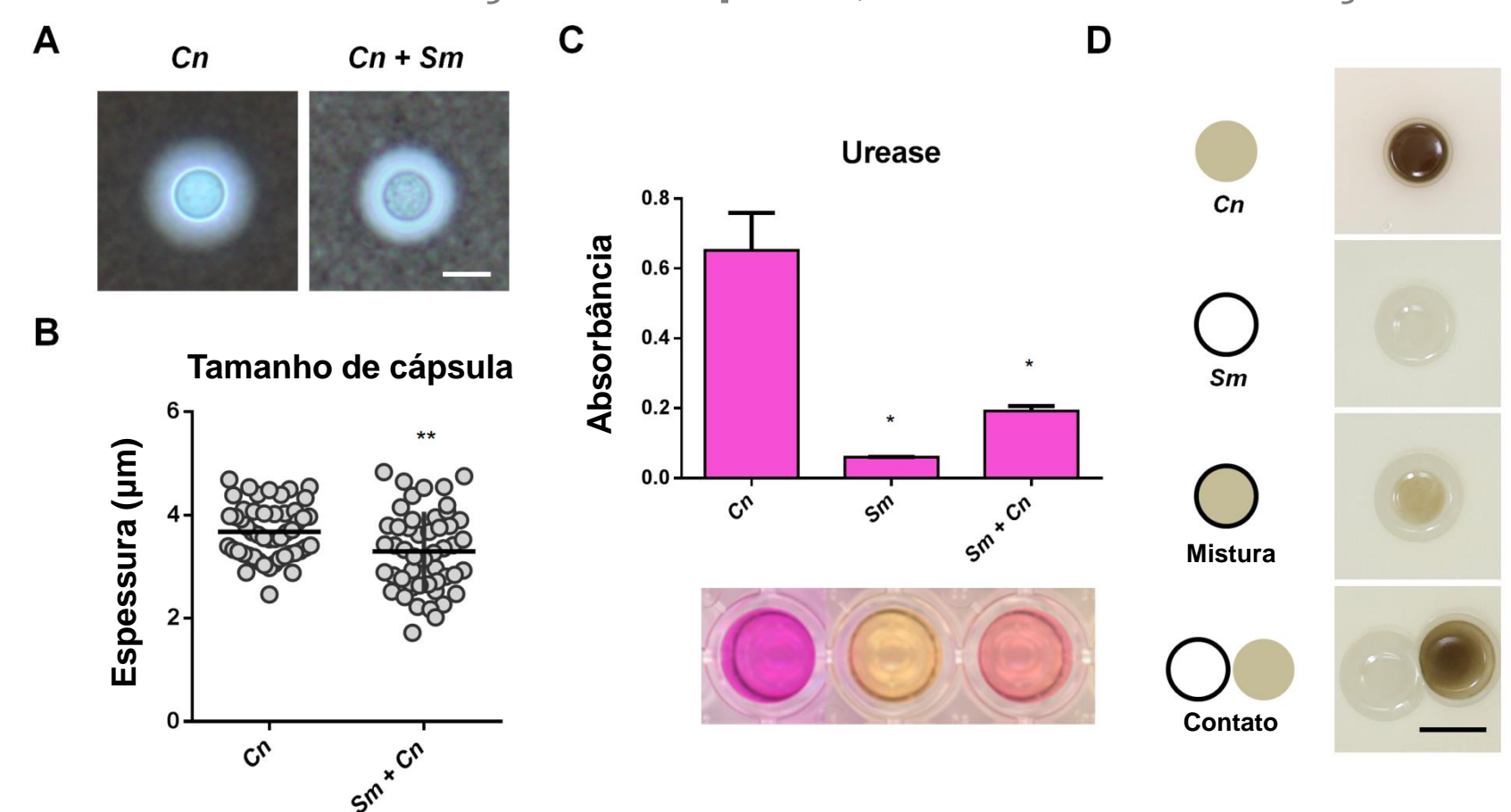


Figura 2. Modulação de determinantes de virulência de *C. neoformans* por *S. marcescens*. (A) Microscopia de luz das células fúngicas após co-cultivo com a bactéria em soro fetal bovino para indução de formação de cápsula. Barra de escala 5 μ m. (B) Medição da espessura de cápsula. **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$. (C) Quantificação da produção de urease de *Cn* isolado e co-cultivado com *Sm* a 37°C por 4 horas em meio ureia. (D) Efeito de antimelanização resultante da interação entre os microrganismos em L-DOPA agar. Barra de escala 0,5 cm.

Colônia bacteriana engolfa *Cn* em interação em meio sólido

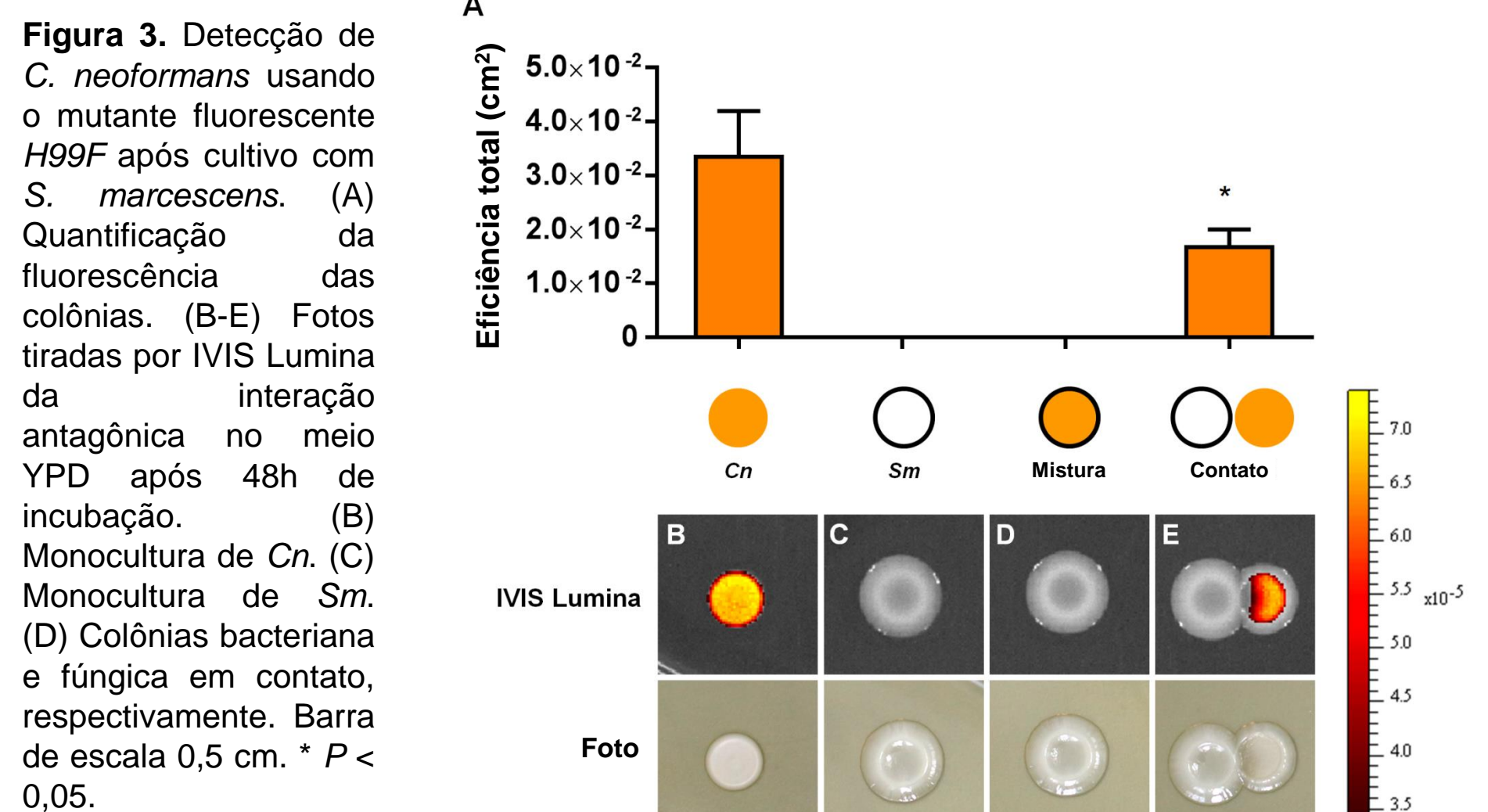


Figura 3. Detecção de *C. neoformans* usando o mutante fluorescente *H99F* após cultivo com *S. marcescens*. (A) Quantificação da fluorescência das colônias. (B-E) Fotos tiradas por IVIS Lumina da interação antagonista no meio YPD após 48h de incubação. (B) Monocultura de *Cn*. (C) Monocultura de *Sm*. (D) Colônias bacteriana e fúngica em contato, respectivamente. Barra de escala 0,5 cm. * $P < 0,05$.

RESULTADOS

Redução da formação de biofilme de *Cn* por *Sm*

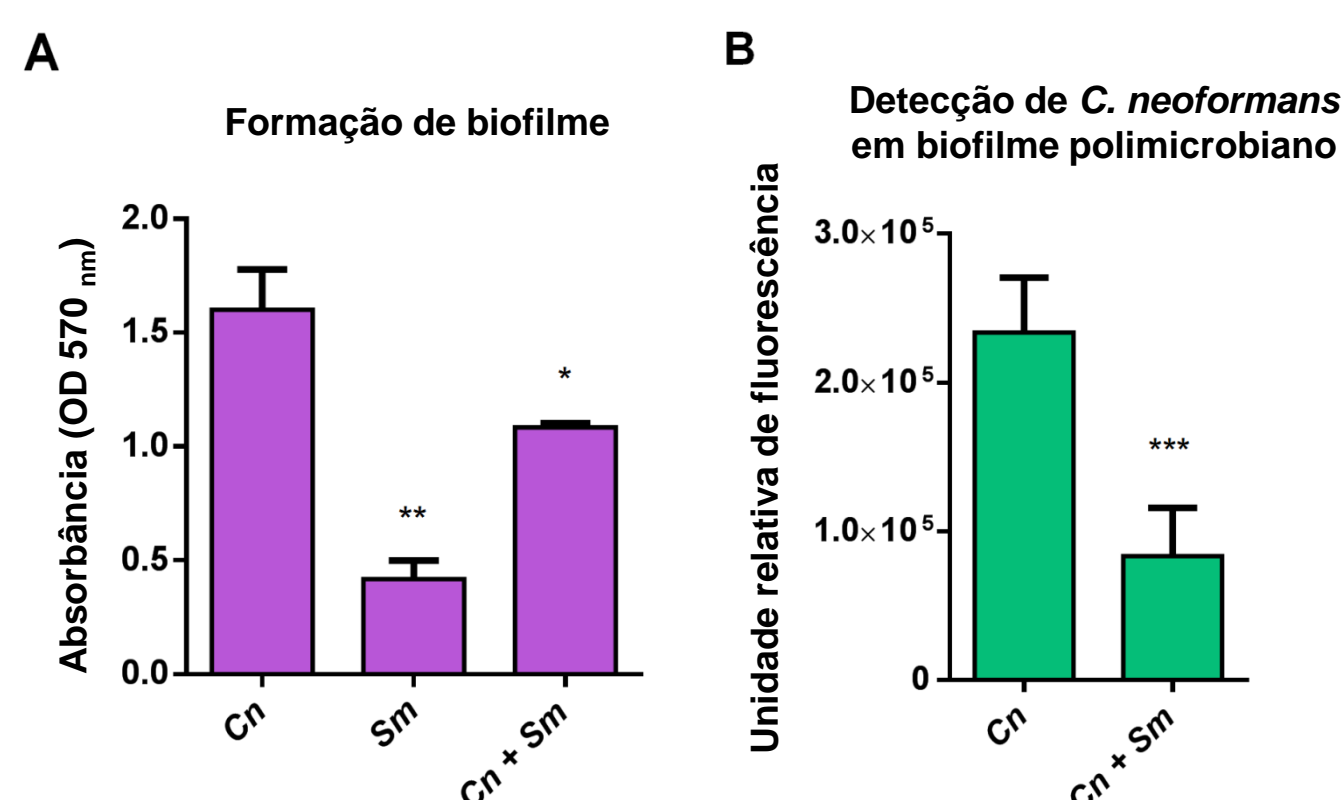


Figura 1. Biofilme polimicrobiano de *C. neoformans* (*Cn*) linhagem B3501 e *S. marcescens* (*Sm*). (A) Quantificação da formação de biofilme dos microrganismos isolados e misturados por Cristal Violeta. (B) Detecção da fluorescência de *Cn* utilizando mutante *B3501F*. Dados obtidos por SpectraMax i3. ***, $P < 0.001$; **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$.

CONCLUSÕES

Esta pesquisa caracterizou a interação antagonista entre dois microrganismos de reinos diferentes. Estudos sobre interações polimicrobianas podem fornecer novas estratégias para terapia antifúngica e a identificação de probióticos capazes de tratar infecções.