

**XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica**

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



**UIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação**

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## Atividade *in vitro* de peptídeos bioinspirados sobre biofilmes polimicrobianos de isolados clínicos

Ana Clara Oliveira Lopes Soares, Gabriel Bonan Taveira,  
Valdirene Moreira Gomes, Érica de Oliveira Mello

A formação de biofilme polimicrobiano é um dos fatores de risco de inúmeras infecções recorrentes da atualidade. Muitos microrganismos têm apresentado resistência aos fármacos, sendo um dos maiores motivos dessa resistência, a formação de biofilme, uma estrutura onde um conjunto de microrganismos é envolvido em uma matriz extracelular polimérica. Os peptídeos antimicrobianos (AMPs) são moléculas comuns no sistema imune de diferentes organismos e apresentam um amplo espectro de atividade inibitória. Desse modo, nosso grupo de pesquisa desenhou dois peptídeos baseados na região  $\gamma$ -core da defensina  $PvD_1$ , isolada de *Phaseolus vulgaris*. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi analisar *in vitro* o potencial antibiofilme de peptídeos bioinspirados sobre biofilmes polimicrobianos de isolados clínicos. Inicialmente, os peptídeos  $\gamma_{33-41}PvD_1^{++}$  e  $\gamma_{31-45}PvD_1^{++}$  foram testados em concentrações, que variavam de 300  $\mu$ M a 37,5  $\mu$ M, contra isolados clínicos polimicrobianos (154DR8 e 153DR5), com prevalência da levedura *Malassezia furfur*. Além disso, nós determinamos a mínima concentração inibitória (MIC), analisamos a viabilidade celular e investigamos o modo de ação desses peptídeos bioinspirados através de ensaios de permeabilização de membranas utilizando a sonda fluorescente *sytox green* e ensaios de indução endógena de espécies reativas de oxigênio (ROS), usando a sonda diclorofluoresceína diacetato ( $H_2DCFDA$ ). Na pré-formação dos biofilmes observamos que o peptídeo  $\gamma_{33-41}PvD_1^{++}$  apresentou uma inibição de 77,5% e 29,5% na maior concentração utilizada, para os isolados 154DR8 e 153DR5, respectivamente. Já o peptídeo  $\gamma_{31-45}PvD_1^{++}$  foi capaz de inibir 100% da pré-formação dos biofilmes nas concentrações de 300, 150 e 75  $\mu$ M para ambos os isolados clínicos, sendo a MIC de 75  $\mu$ M. Adicionalmente, os isolados tratados com 300, 150 e 75  $\mu$ M do peptídeo  $\gamma_{31-45}PvD_1^{++}$ , tiveram 100% de perda de viabilidade celular. Observamos que tanto o peptídeo  $\gamma_{33-41}PvD_1^{++}$  na concentração de 300  $\mu$ M, quanto o peptídeo  $\gamma_{31-45}PvD_1^{++}$ , na concentração de 37,5  $\mu$ M, causaram comprometimento da estrutura da membrana plasmática e aumento da produção endógena de ROS nas células microbianas. As próximas etapas consistem em analisar os biofilme polimicrobiano após o tratamento com os peptídeos por microscopia eletrônica de varredura e transmissão, identificar todos os microrganismos presentes no biofilme, avaliar possíveis alterações conformacionais por dicroísmo circular dos peptídeos na presença de diferentes solventes e modelo de membranas, além de realizar testes *in vitro* para avaliar a toxicidade desses peptídeos em células de mamíferos e *in vivo* utilizando larvas de *Galleria mellonella*.

Instituição do Programa de PG: UENF

Eixo temático: Biociências e Biotecnologia

Fomento da bolsa: FAPERJ, CAPES, CNPq

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XU** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação  
Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**

Encontro de  
Iniciação  
Científica  
da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de  
Iniciação  
Científica do  
IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de  
Iniciação  
Científica  
da UFF



**UIII** Congresso  
Fluminense de  
Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UFF

## In vitro activity of bioinspired peptides on polymicrobial biofilms from clinical isolates

Ana Clara Oliveira Lopes Soares, Gabriel Bonan Taveira,  
Valdirene Moreira Gomes, Érica de Oliveira Mello

The formation of polymicrobial biofilms is one of the risk factors for numerous recurring infections today. Many microorganisms have shown resistance to drugs, and one of the main reasons for this resistance is biofilm formation, a structure where a set of microorganisms is enveloped in a polymeric extracellular matrix. Antimicrobial peptides (AMPs) are common molecules in the immune system of different organisms and have a broad spectrum of inhibitory activity. Thus, our research group designed two peptides based on the  $\gamma$ -core region of the defensin  $PvD_1$ , isolated from *Phaseolus vulgaris*. Therefore, the objective of this work was to analyze in vitro the antibiofilm potential of bioinspired peptides on polymicrobial biofilms of clinical isolates. Initially, the  $\gamma_{33-41}PvD_1^{++}$  and  $\gamma_{31-45}PvD_1^{++}$  peptides were tested at concentrations ranging from 300  $\mu$ M to 37.5  $\mu$ M against polymicrobial clinical isolates (154DR8 and 153DR5), with a prevalence of the yeast *Malassezia furfur*. In addition, we determined the minimum inhibitory concentration (MIC), analyzed cell viability, and investigated the mode of action of these bioinspired peptides through membrane permeabilization assays using the fluorescent probe sytox green and endogenous induction assays of reactive oxygen species (ROS) using the dichlorofluorescein diacetate ( $H_2DCFDA$ ) probe. In the pre-formation of biofilms, we observed that the  $\gamma_{33-41}PvD_1^{++}$  peptide showed inhibition of 77.5% and 29.5% at the highest concentration used for isolates 154DR8 and 153DR5, respectively. The  $\gamma_{31-45}PvD_1^{++}$  peptide was able to inhibit 100% of biofilm pre-formation at concentrations of 300, 150, and 75  $\mu$ M for both clinical isolates, with a MIC of 75  $\mu$ M. Additionally, isolates treated with 300, 150, and 75  $\mu$ M of the  $\gamma_{31-45}PvD_1^{++}$  peptide had 100% loss of cell viability. We observed that both the  $\gamma_{33-41}PvD_1^{++}$  peptide at a concentration of 300  $\mu$ M and the  $\gamma_{31-45}PvD_1^{++}$  peptide at a concentration of 37.5  $\mu$ M caused impairment of the plasma membrane structure and increased endogenous production of ROS in microbial cells. The following steps consist of analyzing the polymicrobial biofilm after treatment with the peptides by scanning and transmission electron microscopy, identifying all microorganisms present in the biofilm, evaluating possible conformational changes by circular dichroism of the peptides in the presence of different solvents and membrane models, as well as performing in vitro tests to assess the toxicity of these peptides in mammalian cells and in vivo using *Galleria mellonella* larvae.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

